

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KORONER ARTER HASTALARINDA İNTERLÖKİN 10 GEN POLİMORFİZMİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Doktora Programı

Doktora Tezi  
Dr. Emin KARACA

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Cihangir ÖZKINAY

İZMİR  
2007



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KORONER ARTER HASTALARINDA İNTERLÖKİN 10 GEN POLİMORFİZMİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Doktora Programı

Doktora Tezi  
Dr. Emin KARACA

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Cihangir ÖZKINAY

İZMİR

2007



## ÖNSÖZ

Doktora eğitimimin her aşamasında destek olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Cihangir Özkınay'a,

Eğitimimdeki katkıları için, desteğini her zaman hissettiğim Sayın Prof. Dr. Ferda Özkınay'a, Araştırma şevkini bizlere de aşıladığı ve her zaman desteği ile yanımda olduğu için Sayın Doç. Dr. Özgür Çoğulu'ya,

Eğitimimde ve tezimin moleküler genetik analizi süresince desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Sacide Pehlivan'a,

Çalışmanın istatistiklerinde hiçbir zaman itiraz etmeden kendine has uslubu ile her zaman yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Cumhur Gündüz'e

Tezime olan destekleri ve yardımları için Sayın Doç. Dr. Meral Kayıkçıoğlu'na,

Eğitimimin son döneminde tanışsakta desteğini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Haluk Akın'a,

Her zaman olduğu gibi tezim konusunda da samimi yardımlarını gördüğüm çok sevgili dostlarım ve doktora arkadaşlarım Sayın Dr. Aslıhan Ekmekçi, Sayın Dr. Asude Alpman, Sayın Dr. Elçin Bora, Sayın Dr. Hüseyin Onay ve Sayın Dr. Tufan Çankaya'ya,

Doktora eğitimim boyunca huzurlu bir çalışma ortamının oluşmasını sağlayan bütün Tıbbi Genetik AD asistan, biyolog, teknisyen ve sekreter arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında bana desteğini esirgemeyen ve hep yanımda olan sevgili ablam Dr. Yeşer Karaca Derice ve sevgili abim Dr. Hayrullah Derici'ye,

Yanımda bana bütün sıkıntılarımı unuttururan biricik yeğenim Elif Derici'ye,

Her an yanımda olduklarını hissettiğim sevgili annem ve babama,

Mutluluğumun ve huzurumun en büyük kaynağı olan, bir çocuk doktoru, eşi olmaktan gurur duyduğum Sayın Dr. Neslihan Karaca'ya teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Emin KARACA

İzmir, 2007

## İÇİNDEKİLER

### BÖLÜM I

ÖNSÖZ.....	i
KISALTMALAR.....	1
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ.....	2
GİRİŞ VE AMAÇ.....	6
GENEL BİLGİLER.....	7
1.1.Ateroskleroz.....	7
1.1.1 Ateroskleroz Tanımı.....	7
1.1.2. Aterosklerozda Risk Faktörleri.....	7
1.1.3. Aterosklerozun Klinik Sonuçları.....	9
1.1.4. Aterosklerozun Histopatolojisi.....	10
1.2. Ateroskleroz Patogenezi.....	16
1.2.1. Düşük Dansiteli Lipoprotein Birikmesi ve Modifikasyonu.....	17
1.2.2. İnflamatuar Hücrelerin Toplanması.....	18
1.2.3. Oluşan Lezyonda T Hücreleri ve İmmun Reaksiyonlar.....	19
1.2.3.1. Antijenler ve İmmun Aktivasyon.....	19
1.2.3.2. İmmun Sitokinler ve Efektör Mekanizmalar.....	21
1.2.3.3. Sitokinlerin İmmun Yanıtta Rollerini.....	25
1.2.3.4. Sitokinlerin Sınıflanması.....	26
1.3. Genetik Organizasyon.....	26
1.3.1. Gen Polimorfizmi.....	26
1.3.1.1. Tek Nükleotid Polimorfizmi (TNP) = SNP.....	27
1.3.1.2. Mikrosatellit Polimorfizmi.....	27
1.3.2. Polimorfizmlerin Önemi.....	27

1.3.3. IL-10 Gen Polimorfizmi ve Hastalık İlişkileri.....	28
1.4. IL-10 .....	29
1.4.1. IL-10 Protein Yapısı.....	29
1.4.2. IL-10 Reseptörü.....	30
1.4.3. IL-10 Sinyal İletimi.....	30
1.4.4. IL-10 Salgılayan Hücreler.....	31
1.4.5. IL-10 Etkileri.....	31
1.4.6. IL-10 Genetik Özellikleri Ve Polimorfizmleri.....	32

## BÖLÜM II

GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
2.1. Örneklerin Seçimi.....	17
2.2. Koroner Arter Hastalığı Tanısı .....	19
2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	
2.3.1. Serum lipid tayini ve değerlendirmesi	
2.3.2. Kandan DNA İzolasyonu	
2.3.3. DNA Amplifikasyonu	
2.3.3.1 Primerlerin Sulandırılması	
2.3.3.2 Reaksiyon Karışımı	
2.3.3.3 İzlenen PCR Programı	
2.3.3.4. Agaroz Jel Elektroforezi	
2.3.4. DNA'nın Enzimatik Kesim İşlemi	
2.4. İstatistiksel Analiz	

## BÖLÜM III

BULGULAR.....	33
---------------	----

## BÖLÜM IV

TARTIŞMA.....	45
---------------	----

## BÖLÜM V



SONUÇLAR.....	56
BÖLÜM VI	
ÖZET.....	57
ABSTRACT.....	58
BÖLÜM VII	
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	

## KISALTMALAR

<b>AMI</b>	:Akut Miyokard İnfarktüsü
<b>CRP</b>	:C Reaktif Protein
<b>FGF</b>	:Fibroblast Büyüme Faktör
<b>fMLP</b>	:Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine
<b>GM-CSF</b>	:Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	:İnterferon-gama
<b>IL</b>	:İnterlökin
<b>IL-1RA</b>	:İnterlökin -1 Reseptör Alfa
<b>KAH</b>	:Koroner Arter Hastalığı
<b>M-CSF</b>	:Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
<b>MHC</b>	:Major Histokompatibilite Kompleksi
<b>LDL</b>	:Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>NF<math>\kappa</math>B</b>	:Nuclear Factor Kappa B
<b>NK</b>	:Natural Killer Cell= Doğal Öldürücü Hücre
<b>PCR-RFLP</b>	:Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>STAT</b>	:Signal Transducer and Activator Transcription
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	:Transforming Growth Factor- beta
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	:Tümör Nekrozis Faktör-alfa
<b>TNF- <math>\beta</math></b>	:Tümör Nekrozis Faktör-beta
<b>TNP</b>	:Single Nucleotid Polymorphism: SNP
<b>Tyk2</b>	:Tirozin Kinaz 2
<b>VCAM-1</b>	:Damar Hücresi Adezyon Molekülü-1
<b>VEGF</b>	:Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör
<b>VLA-4</b>	:Geç Aktivasyon Molekülü-4
<b>VNTR</b>	:Variable number tandem repeat
<b>3'UTR</b>	:3' untranslated region

## Tablo ve Şekil Dizini

- Tablo 1** : Aterosklerotik lezyon patolojisi
- Tablo 2** : Aterosklerozun sıçan modellerinde patogenetik mekanizmaları
- Tablo 3** : Aterosklerozda aday antijenler
- Tablo 4** : Aterosklerotik lezyonlarda bulunan bazı sitokinler
- Tablo 5** : Serum lipidleri ve normal değerleri
- Tablo 6** : IL-10 -1082G/A polimorfimi allel sıklığı ve Hardy-Weinberg Eşitliliği
- Tablo 7** : Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A Allel sıklığı ve Hardy-Weinberg Eşitliliği
- Tablo 8** : KAH olan olgu grubu ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı
- Tablo 9** : Hasta ve kontrol grubunun risk faktörleri açısından değerlendirilmesi
- Tablo 10** : Hasta ve kontrol grubunun serum lipid düzeyleri açısından değerlendirilmesi
- Tablo 11** : Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -1082 A/G genotipi ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 12** : Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -1082 A/G polimorfizmi allel sıklığı ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 13** : Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A genotipi ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 14** : Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A polimorfizmi allel sıklığı ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması
- Tablo 15** : Hasta grubunun anjiyografi bulguları
- Tablo 16** : Hasta grubunun IL-10 -1082G/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması
- Tablo 17** : Hasta grubunun IL-10 -1082G/A polimorfizmi allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması
- Tablo 18** : Hasta grubunun IL-10 -592C/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması
- Tablo 19** : Hasta grubunun IL-10 -592C/A polimorfizmi allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması
- Tablo 20** : Hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A polimorfizmi için genotip dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 21** : Hasta ve kontrol gruplarında C592A polimorfizmi için genotip dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 22** : Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü için IL-10 -1082G/A polimorfizminin genotip dağılımı.
- Tablo 23** : Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü için IL-10 -592C/A polimorfizminin genotip dağılımı

- Tablo 24** : Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 25** : Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 26** : 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 27** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 28** : 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 29** : 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 30** : Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 31** : 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 32** : 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 33** : Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 34** : 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 35** : 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi
- Tablo 36** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 37** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş ve üstü kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 38** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş altı kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 39** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 40** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş ve üstü erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 41** : IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş altı erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması
- Tablo 42** : Hasta ile kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi
- Tablo 43** : 45 yaş altı hasta ile kontrol grubunda IL-10 G1082A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi
- Tablo 44** : 45 yaş ve üstü hasta ile kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi

- Şekil 1** : Tip I aterosklerotik lezyonun progresyonu
- Şekil 2** : Tip II aterosklerotik lezyonların progresyonu
- Şekil 3** : Tip IV aterosklerotik lezyonların progresyonu
- Şekil 4** : Tip VI aterosklerotik lezyonların progresyonu
- Şekil 5** : PCR aleti (Gene Amp PCR System 9700)
- Şekil 6** : IL-10 -1082 ve -592 bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun kontrol analizine ait jel görüntüsü
- Şekil 7** : IL-10 geni -1082 bölgesinin enzim kesim analizinde a1(-1082GG), b1(-1082GA), c1(-1082AA) genotiplerine ait jel görüntüsü
- Şekil 8** : IL-10 geni -592 bölgesinin enzim kesim analizine a1(-592CC), b1(-592CA), c1(-592AA) genotiplerine ait jel görüntüsü

## **BÖLÜM I**

### **GİRİŞ ve AMAÇ**

Kardiyovasküler hastalıklar batı toplumlarında önde gelen ölüm nedenlerindedir ve yaygın bir halk sağlığı sorunudur. Günümüzden 100 yıl kadar önce 40 yıl civarında olan insan ömrü bugün gelişmiş toplumlarda 80 yaş sınırını zorlamaktadır ve ülkemizde de 70 yaş civarına ulaşmıştır. Bugün, malignite ve aterosklerotik hastalıklar en önemli toplumsal sağlık sorunları olarak kendini göstermektedir. Ülkemizde 2000 yılında ulusal düzeyde yapılmış olan bir çalışmada ölüme neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında, bunun %23'ünü, ulusal düzeyde sakatlığa ayarlanmış yaşam yılına neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında ise bunun %8'ini iskemik kalp hastalıklarının oluşturduğu görülmektedir (1). Toplumdaki her beş kişiden birisi en az bir çeşit kardiyovasküler hastalığa yakalanmakta ve her altı kişiden biri 65 yaşından önce kardiyovasküler nedenlerden ölmektedir (2).

Koroner Arter Hastalığı (KAH) temelinde genellikle çocukluk çağında başlayan ilerleyici süreç "ateroskleroz" yer almaktadır (2). Yirmi yıl kadar önce aterosklerozun, ilerleyici lezyonlarda lipid ve nekrotik artıkların birikimi nedeni ile dejeneratif ve progresif bir süreç olduğu düşünülmekte iken, son yıllarda, etkilenen arterin intimasında düz kas hücre birikimi olan multifaktöriyel bir süreç olduğu ortaya konmuştur. Belli bir genetik yapı ve riske sahip kişilerde çevresel risk faktörlerinin etkisi ile ortaya çıkan ateroskleroz patogenezi, yoğun araştırmaların yürütüldüğü güncel bir konudur. Bu araştırmalar içinde, ateroskleroz patogenezinde hücre aracılı immünite ve sitokinlerin de yer aldığını gösteren çalışmalar ilgi çekicidir (3-7).

Doğal ve kazanılmış immünitinin elemanı olan sitokinler düşük molekül ağırlıklı, tek bir zincirden oluşan proteinlerdir ve hücre büyümesi, hücre aktivasyonu, doku onarımı, fibrozis ve morfogenez gibi pek çok biyolojik olayı düzenlerler (7).

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar tipte sitokinlerin pek çok infeksiyon, inflamasyon, otoimmün ve malign hastalığın patogenezinde katkısı olduğu gösterilmiştir. Bu noktadan hareketle sitokin genlerindeki polimorfizmlerin, o sitokinin ekspresyonunu etkileyebileceği ve hastalıklara genetik bir yatkınlık oluşturabileceğini gösteren pek çok çalışma yapılmıştır.

Temel olarak immünosupresif ve antiinflamatuvar olan IL-10 doğal immün reaksiyonlar ile hücre aracılı immünitinin homeostatik kontrolünde gereklidir(7).

KAH erken başlangıç evreleri ile klinik belirtilerin çıktığı evre arasında uzun bir gecikme süresi bulunan bir hastalıktır. Bu nedenle yeni yaklaşımların sekonder önlemler veya KAH komplikasyonlarının tedavisi yerine erken tanıyı ve hastalığın önlenmesini hedeflemesi gerektiği açıktır. Bu amaçla yeni radyolojik ve biyokimyasal tanı gereçleri araştırılmaktadır.

Koroner kalp hastalığı çeşitli gen-gen ve gen-çevre etkileşimleri ile ortaya çıkan kompleks bir durumdur. Bu konuyla ilgili řu ana kadar birçok aday gen bildirilmiştir. Koroner kalp hastalıklarında yapılan genetik çalışmaların esas amacı, iyi bilinen klasik klinik ve biyokimyasal risk faktörleri ile birlikte ortak bir risk ortaya çıkartmaktır. Koroner kalp hastalıkları riskinde fonksiyonel gen polimorfizmlerinin oynadığı rolü saptamak sadece koroner kalp hastalarında değil aynı zamanda hastalık ortaya çıkmadan anahtar metabolik yolların ve fizyolojinin anlaşılmasında da önemli bir rol almaktadır. Bu polimorfizmlerden proinflamatuvar sitokinlerin gen polimorfizmlerinin koroner kalp hastalığı riskine oldukça katkıda bulunduğu düşünölmektedir. Yapılan çalışmalar, inflamasyonun düzenlenmesinde antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10'nun kritik bir rol üstlendiğini desteklemektedir. IL-10'un temel görevi makrofaj ve monosit gibi inflamatuvar hücreler arasındaki inflamatuvar sinyalin sınırlanması veya sonlanması olarak düşünölmektedir (7). IL-10 geni 1. kromozomun q31-32

bölgesinde lokalize ve yüksek bir polimorfizme sahiptir. Literatürde IL-10 gen polimorfizm ve koroner kalp hastalığı ilişkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır (8). Türkiye’de henüz bu konuyla ilgili dünya literatürüne geçecek bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda, Türk toplumunda koroner arter hastalığı ile ilişkisi olduğu düşünülen IL-10 genine ait -1082 / - 592 pozisyonundaki iki adet tek nükleotid polimorfizminin PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi kullanarak koroner arter hastalığı tanısı almış hastalarda araştırılması planlandı. Bu sayede koroner arter hastalığının patogenezinin aydınlatılmasının yanında, yatkınlık gen polimorfizmlerinin belirlenmesi ile hastalığının prognozu ve tedavisine yönelik yeni yararların ortaya konması hedeflenmektedir.



## **GENEL BİLGİLER**

### **1.1. ATEROSKLEROZ**

#### **1.1.1 Tanım**

Dejeneratif, ilerleyici ve multifaktöriyel bir hastalık olan ateroskleroz çeşitli organlara kan akımının bozulmasına yol açan bir hastalık sürecidir. Orta büyüklükte ve daha büyük arterlerin kalınlaşması ve sertleşmesi sonucu damar lümeninin aterosklerotik plaklarla daralması “ateroskleroz” olarak tanımlanmaktadır. Ateroskleroz terimi Yunanca “athero” (bulamaç) ve “sclerosis” (sertleşme) den köken alır (2).

Gelişimi çocukluk çağında başlamasına rağmen erken dönemde damar lümenini tıkamadığı için bulgu vermez. Bulgular, plak iyice gelişip, komplike hale gelince erkekte kırk, kadınlarda ise elli yaşlarından itibaren ortaya çıkar ve ellili yaşlarda her iki cinste risk eşitlenir (9). Çocukluk yıllarında beliren yağlı çizgilenmeler aterosklerozun sık görüldüğü toplumlarda 25 yaş civarında fibröz plak gelişimi, daha sonra da komplike lezyon gelişimi ile devam eder (10).

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde büyük gelişmelere rağmen, ateroskleroz ve onun en önemli komplikasyonu olan akut miyokard infarktüsü (AMI), birçok ülkede kadın ve erkeklerde ölüm nedeni olarak başta gelmekte ve aynı derecede önemli olarak yaşamı kısıtlamaktadır.

#### **1.1.2. Aterosklerozda Risk Faktörleri**

Aterosklerozun yol açtığı KAH gelişmesinde etken olan risk faktörleri epidemiyolojik çalışmalar sonucunda tanımlanmıştır. Bir kişide risk faktörlerinden ne kadar fazla bulunuyorsa KAH'ının gelişme olasılığı o kadar artmaktadır. Koroner arter hastalığına bağlı mortalite oranı erkeklerde kadınlara göre çok daha yüksektir. Ateroskleroza yol açan genetik ve çevresel risk faktörleri aşağıda özetlenmiştir (2,10):

1. Değiştirilemeyen risk faktörleri

- İleri yaş (Erkeklerde 45, kadınlarda 55 veya erken menopoz)
- Erkek cinsiyet
- Aile öyküsü (Birinci derecede erkek akrabalarda 55 yaşından, birinci derecede kadın akrabalarda 65 yaşından önce infarktüs veya ani ölüm bulunması)

## 2. Değiştirilebilen bağımsız risk faktörleri

- Hipertansiyon
- Hiperkolesterolemi (Total kolesterol > 200 mg/dl, LDL-kolesterol >130 mg/dl, düşük HDL-kolesterol <35 mg/dl)
- Sigara kullanımı
- Glukoz intoleransı
- Obesite
- Sedanter yaşam koşulları
- Oral kontraseptifler
- Artmış fibrinojen ve lökosit sayısı

Yukarıda sıralanan majör ve bağımsız risk faktörlerinin yanısıra bazı diğer etkenler ve yeni tanımlanan risk faktörleri de kişinin riskini etkiler. Bu etkenler arasında aterojenik diyet, subklinik aterosklerotik hastalık, lipoprotein A yüksekliği, hiperhomosisteinemi, protrombotik ve proinflamatuvar risk faktörleri sayılabilir. Bu faktörler henüz risk kategorisini belirlemede kullanılmamaktadır (11). Ancak bireysel tedavi yaklaşımında bu faktörlerin de araştırılması, hekime daha yoğun bir tedavi yapması için yol gösterici olabilir.

### 1.1.3. Aterosklerozun Klinik Sonuçları

Kalbi besleyen arterler tıkanıdığı durumda oluşan iskemi anjinaya neden olabilmektedir. Ateroskleroz çok ciddi düzeyde ise myokard infarktüsü meydana gelir. Beyine giden kan akışının bozulması geçici iskemik ataklara veya felce neden olabilir. Ayrıca iliofemoral arterlerdeki aterosklerotik lezyonlar bacaklara giden kan miktarını azaltır ve yürüyüş sırasında kladikasyo intermittanta yol açabilir (10).

Ateroskleroz günümüzde kısmen kronik düşük düzeyli inflamasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir ve inflamasyon plak başlaması, ilerlemesi ve trombozunun önemli bir unsurudur. Bu hipotez deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarla desteklenmiştir. Düşük düzeyli inflamasyonun biyolojik göstergeleri arasında C Reaktif Protein (CRP) klinik açıdan en yararlı olanıdır (yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein, hs-CRP) mevcut inflamatuvar göstergeler arasında en güçlüsüdür (12). CRP yüksekliğinin kararsız plakların varlığını yansıttığı da bildirilmektedir. Yakın zamandaki gözlemler özellikle metabolik sendromun CRP ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bununla beraber primer korunmada, CRP'nin inflamatuvar gösterge olarak rutinde araştırılması önerilmemektedir (12).

Tüm dünyada epidemik hale gelen kardiyovasküler hastalıkların en sık nedeni aterogenez ve buna eklenen trombozdur. Ateroskleroza genetik yatkınlık olmasına karşılık aterosklerozla ilişkili hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara ve diabetes mellitus çoğunlukla sonradan edinilir, yani aterosklerozun genellikle hayatın ilerleyen dönemlerinde açığa çıkan klinik sonuçları önlenebilir (13). Ateroskleroz arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı gelişen karmaşık bir inflamatuvar- fibroproliferatif yanıtıdır (14). Aortadan epikardiyal koroner arterlere dek değişen büyüklükte sistemik arterleri etkileyebilir. İleri evrelerde çeşitli lezyonlar birarada görülebilirse de intimal plaklar karakteristik lezyonudur. Plaklar daha çok lümen yüzeyi ile düşük dansiteli lipoprotein (LDL) gibi kandaki partiküller

arasında etkileşim süresinin artmış olduğu dallanma bölgelerine yakın kısımda yerleşir. Bu durum, lipoproteinlerin transendotelial difüzyonunda artışla ve hiperlipidemi varlığında subendotelial matrikste lipid birikiminde artışla ilişkilidir. Homosisteinin yüksek düzeyleri de endotel tabakasında hasara yol açarak vasküler permeabiliteyi artırır. Son zamanlarda aterosklerotik plakların %50-75'inde saptanan *Chlamydia pneumoniae* varlığı mikroorganizmaların da aterosklerozdaki rolüne dikkatleri çekmiştir (6, 11). Ekstrasellüler lipid, köpüksü sitoplazmalı hücrelerdeki lipid ve düz kas hücrelerinin ürettiği kollajen gibi bağ dokusu elemanlarından oluşan plak içeriği de plaklar arasında farklılık gösterebilir. Köpük hücreleri büyük oranda arter lümeninden plak içine giren monositlerden köken alan makrofajlardan oluşur (15, 16).

#### **1.1.4. Aterosklerozun histopatolojisi**

Aterom veya aterosklerotik plaklar olarak tarif edilen aterosklerotik lezyonlar, arterin en iç tabakası olan intimanın asimetrik fokal kalınlaşmasıdır. Lezyonlar hücre, bağ doku elemanları, lipid ve debristen oluşmuştur. Ateromlarda bulunan hücrelerin çoğu kan kökenli inflamatuvar/immün hücrelerdir, kalanı vasküler endotelial ve düz kas hücreleridir. Kronolojik olarak ateromdan önceki lezyonlar yağlı çizgilenmelerdir. Bu bölgeler yağ damlacıkları ve immün hücre birikiminden oluşmuştur. Lipid yüklü makrofajlar (köpük hücreleri olarak da adlandırılır) yağlı çizgilenmelerde en fazla bulunan hücrelerdir. Bunların yanısıra T lenfositler, dendritik hücreler ve mast hücreleri de yer alır. Yağlı çizgilenmeler genç bireylerde bulunur ve hiçbir zaman semptoma neden olmayıp zamanla kaybolabilir veya aterom plaklarına ilerleyebilir (14).

Uzun yıllar boyunca patologlar tarafından yapılmış olan morfolojik incelemelerin ışığında üç tip aterosklerotik plak tarif edilmiştir (14);

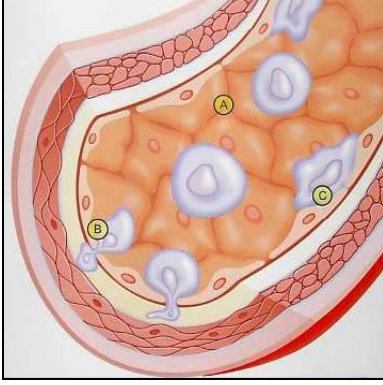
1. Yağlı çizgilenmeler,
2. Fibröz plaklar ve
3. Komplike lezyonlar.

Yağlı çizgilenmeler, çok sayıda lipid damlacıkları ile dolu makrofajların intimada birikmesinden oluşur. Lipid damlacıkları, spesifik bir reseptör temizleyici ailesi tarafından alınan, okside olmuş veya toplanmış LDL'lerden kaynaklanan kolesterol esterlerinden oluşur. Makroskobik incelemede, kan akımı yönünü takip eden sarı çizgiler şeklinde görülür. Yağlı çizgilenmeler kan akımını etkilemezler.

Fibröz plaklarda lipidler hem makrofaj köpük hücrelerinde, hem de ekstrasellüler matriks içinde bulunurlar. İntima, düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin birikmesine bağlı olarak kalınlaşmıştır. Lipidler ve makrofajlar, çoğunlukla, T lenfositler ve bazen B lenfositler ve mast hücrelerini de içeren çekirdek bölgesinde daha sık görülür. Düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks subendotelyal bölgede daha fazla miktarda bulunur ve plağın daha derin olan bölümünde lipid ve inflamatuvar hücreleri kaplayan fibröz bir şapka oluşturur.

Komplike lezyonlar, lipidler, inflamatuvar hücreler ve fibröz dokuya ek olarak, hematoma veya kanama veya trombotik depozitler de içeren plaklardır. Komplike lezyonlar daha çok fibröz plağın yırtılması sonucunda gelişirler. Diğer olası bir neden, adventisyal vaza vazorumdan plağa giren kapillerde kanama olabilir. Fibröz şapka ve luminal yüzeyde fissürler, erozyonlar ve ülserasyonlar diğer sık görülen özelliklerdir. Koroner ateroskleroza bağlı morbidite ve mortalite, esas olarak bu lezyonlara bağlıdır. Daha yaşlı kişilerde bu lezyonlar çoğunlukla kalsiyum depozitleri içerirler, kalsiyum depozitleri plakları daha kırılabilir ve gerilme stresine yanıt olarak yırtılmaya daha eğilimli hale getirebilir.

Amerikan Kalp Birliği Damar Lezyonları Komitesi plak tiplerini gelişimine göre sınıflamayı önermektedir (16); ilk lezyon **Tip I**, minör lipid birikimi ve monositlerin endotel yüzeyine yapışıp arter lümeninden intimaya geçmeleriyle oluşan seyrek makrofaj köpük hücrelerinden oluşur (**Şekil 1.**).



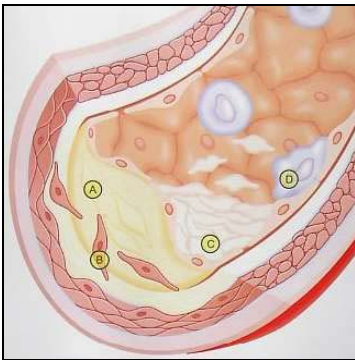
**Şekil 1.** Tip I aterosklerotik lezyonun progresyonu (17)

A- Endotel geçirgenliği,

B- Lökosit göçü,

C- Lökosit adhezyonu.

**Tip II** lezyon, çoğunluğu monosit kökenli olan lipid yüklü köpük hücrelerinin, sağlam endotel altında bölgesel kümelenmesiyle oluşan yağlı çizgilenmelerdir. Bu lezyonlarda az miktarda T lenfositleri, mast hücreleri ve lipidle dolu düz kas hücreleri de vardır (**Şekil 2.**).



**Şekil 2.** Tip II aterosklerotik lezyonların progresyonu (17)

A- Köpük hücre gelişimi,

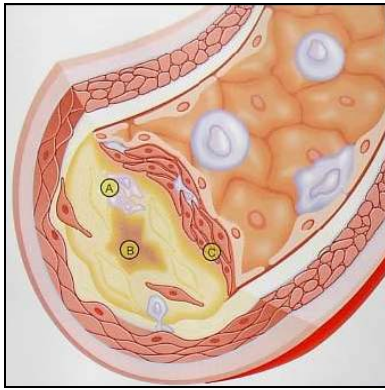
B- Kas hücresi göçü,

C- Trombosit adhezyon ve agregasyonu,

D- Lökosit adhezyonu ve girişi.

**Tip III** lezyon, ek olarak az miktarda ekstrasellüler lipid kümeleri içerir. Tip I-III lezyonlar daha sonraki lezyonların öncüleri olmasına karşılık klinik semptomaya yol açmazlar.

**Tip IV** lezyonda ekstrasellüler lipid kümeleri biraraya gelerek bir lipid çekirdek oluşturur. Bu lipid çekirdek inflamatuvar hücreler tarafından çevrelenmiş ve ince bir düz kas hücre tabakası ve bağ dokusu tarafından kaplanmıştır (**Şekil 3.**). Tip IV lezyon genellikle yarım ay şeklindedir ve damar duvarı kalınlığını artırır. Bu evrede orjinal lümen çapını korumak için arterde yeniden yapılanma oluşur.



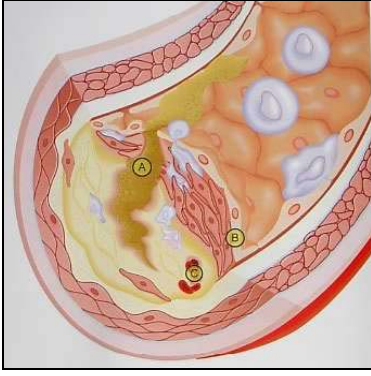
**Şekil 3.** Tip IV atrosklerotik lezyonların progresyonu (17)

A- Makrofaj birikimi,

B- Nekrotik çekirdek oluşumu,

C- Fibröz tabaka oluşumu.

**Tip V** lezyonda yoğun bağ doku depolanması vardır ve lipid çekirdeği çevreleyen fibröz bir kapsül oluşur. Çekirdeği lümeden ayıran kapsül kısmı plak başlığıdır. Bu lezyonlar çoğunlukla çok büyüktür ve bu nedenle arter duvarında yeniden yapılanma (remodeling) ile kompensasyon gelişemediğinden lümen daralır (14).



**Şekil 4.** Tip VI aterosklerotik lezyonların progresyonu (17).

A- Plak rüptürü,

B- Fibröz plak kalınlaşması,

C- Plak kanaması.

**Tip VI** plaklar çoğunlukla tip V plaklarda gelişen trombozun veya kanamanın komplike ettiği plaklardır. Bu lezyonun gelişmesinin nedeni plak yırtılmasıdır ve subendotelyal fibröz dokuda fissürler, erozyonlar ve ülserasyonlar sık olarak gözlenir (**Şekil 4.**). Akut myokard infarktüsü ve kararsız angina gibi klinik olaylar bir kaç istisna dışında tip VI lezyona bağlıdır.

**Tip VII** plaklarda yoğun kalsifikasyon vardır.

**Tip VIII** plaklar ise neredeyse tümüyle kollajen ve düz kas hücrelerinden oluşur.

Bu lezyonlar tip V ve VI lezyonlara göre daha stabildir. Bu nedenle tip V ve VI lezyonlar tip VIII lezyona dönüştürülebilirse klinik açıdan büyük bir kazanç elde edilmiş olur. Son zamanlarda statinlerin bu şekilde plak stabilizasyonu sağladığını gösteren çalışmalar vardır (14).

İleri tip IV ve tip V plakların varlığı klinik semptomlara yol açar. Batı toplumlarında hemen herkeste plak bulunmasına karşılık her bireyde iskemik kalp hastalığı (İKH) gelişmez. İKH gelişenlerde risk faktörleri ile plak sayısı arasında ilişkili vardır. Sigara, hiperlipidemi, hipertansiyon ve Diabetes Mellitus gibi faktörler semptoma yol açabilecek plakların sayısını artırırlar (16).



Tip IV ve tip V plakların çoğu koroner anjiyografide görülemeyebilir. Çünkü aterosklerotik bir plağın gerisinde media inceliş ve atrofiye olarak plağın dışarı değil de içeri doğru tümsekleşmesine olanak sağlar. Ayrıca intimal bir plağın gelişmesi, arter duvarının yeniden yapılanmasına ve dış çapın kalınlaşmasına neden olarak plağın lümen boyutlarını etkilemeden yerleşmesine katkıda bulunur. İntravasküler ultrasonografi bu plakların saptanmasında yardımcıdır (14,16).

Tip V plakların hepsinde ortak olarak fibromusküler bir başlık bulunur. Bu başlık göreceli olarak kalın ve uniform olabilir veya araya giren ince alanlarla kalınlık değişebilir. Lipid çekirdek plak hacminin %10- 70'ini oluşturabilir. İnflamatuvar aktivitenin derecesi de plak heterojenitesinin önemli bir parçasıdır (14).

**Tablo 1:** Aterosklerotik lezyon patolojisi (16)

<b>Aterosklerotik olmayan intimal lezyonlar</b>		
Tip I	başlangıç intimal kalınlaşma	köpük hücresi yok
Tip IIa	yağlı çizgilenmeler	köpük hücreleri var, reversibl
<b>İlerleyici aterosklerotik lezyonlar</b>		
Tip IIb	patolojik intimal kalınlaşma	nekroz yok
Tip III	preateroma-erozyon	lümende tromboz
Tip IV	ateroma	fibröz yapı ile çevrili nekrotik çekirdek
Tip VI	fibroaterom	fibröz kap incelmiş
Tip VII	kalsifiye nodül	nodüler kalsifikasyon
Tip VIII	komplike lezyon	yüzey defekti, hematoma, trombüs

## 1.2. Ateroskleroz Patogenezi

Alman patolog Rudolf Virchow (18)'a göre arter duvarında meydana gelen düşük dereceli hasar arterin intimasında plazma içeriğinin artmış pasajına ve birikimine neden olan inflamasyon ile sonuçlanmaktadır. Rokitansky' e göre küçük mural trombozun üstüne arteriyel hasarın olduğu yerde bir tabaka meydana gelir ve bu tabaka trombüs içine ilerleyen düz kas hücrelerinin büyümesiyle organize olur (19). Lezyonların birleşmesi ile aterosklerozun progresyonu gerçekleşir. Bu iki görüş ardından Ross tarafından 1973'de aterosklerozda "endotelial hasara karşı yanıt (response to injury)" hipotezi ortaya atılmıştır (20). Bu hipoteze göre hipertansiyonda ortaya çıkan reolojik (deformasyon) değişiklikler, hormonal disfonksiyon ve hiperlipidemiye içeren aterogenezle ilgili risk faktörleri, sigara içme alışkanlığı ve diabetes mellitus gibi etkenler sonucu endotelial bariyerin değişimi ve hasar görmesi aterosklerozun başlangıcı için önemli rol oynamaktadır. Hasar verici ajanlar modifiye lipoprotein formları kadar herpes gibi virüsler, klamidya gibi mikroorganizmalar, toksinler, mekanik ve immün faktörler olabilir. 1973'de öne sürülen monoklonal hipotezde ise aterogenez lezyonları neoplazinin bazı formları olarak kabul görmektedir (20).

Brown ve Goldstein 'ın LDL reseptörlerini ve kolesterol metabolizmasının mekanizmasını keşfetmesi, kolesterol hipotezinin etkin farmakolojik ve genetik araçlarla test edilmesine olanak sağlamıştır (21). Deneysel modellerde ve insanlarda serum kolesterolü ve aterosklerozun derecesi arasında direkt korelasyon olduğu açık bir şekilde gösterilmiştir.

İnsanlardaki lezyonların incelenmesi hastalık sürecine katılan molekülleri ve hücreleri tanımlamıştır. Gen silinmesi (knockout) teknolojisindeki yeni ilerlemeler, belli bir zaman noktasında ve/veya belli bir dokuda, gen defekti indüksiyonuna olanak sağlar; bu metodların kullanımı konu ile ilgili bilgilerin artmasına neden olmuştur. Tablo 2' de knockout teknolojisi kullanılan bazı çalışmalar ve önemli modelleri özetlemektedir. (22).

**Tablo 2:** Aterosklerozun sıçan modellerinde patogenetik mekanizmaları (22)

Aterosklerozun sıçan modellerinde patogenetik mekanizmaları		
Hedef gen veya genler	Fenotip	Ateroskleroz üzerine etki
ApoE	Hiperlipoproteinemi	Spontan ateroskleroz
LDL reseptörü	Hiperlipoproteinemi	Hastalık yağlı diyetle indüklenir.
ApoE*M-CSF	Bozuk makrofaj diferansiasyonu	Hastalık azalır
ApoE*CD40L	Bozuk immün sinyal	Hastalık azalır
ApoE*IFN- $\gamma$ reseptör	Bozuk Th1 sinyali	Hastalık azalır
ApoE*P-selektin	Bozuk lökosit adezyonu	Hastalık azalır

### 1.2.1. Düşük dansiteli lipoprotein birikmesi ve modifikasyonu

Hiperkolesterolemi gibi proaterojenik uyarılara maruz kalan deney hayvanında ilk saptanan değişiklikler, subendotelyal intimada kan kaynaklı lipidlerin ve endotelyum üzerinde lökosit adezyon moleküllerinin görülmesidir. Plazmada LDL düzeyi yükseldiği zaman çok miktarda LDL endotelyumdan geçerek intimaya gider. Transendotelyal permeabilitenin arttığı arteriyal ağacın dallanma bölgelerinde bu süreç hızlanır. LDL'nin intimadan eliminasyonu sınırlıdır, çünkü bu bölgede mikrodamarlar eksiktir. Bu nedenle, LDL ekstrasellüler matriks içinde tutulur. Matriksin proteoglikanlarının LDL'ye afinitesi vardır, böylece LDL matrikse bağlanır ve LDL havuzu oluşur (23).

LDL intimada doku makrofajları yolu ile oluşturulan oksijen radikalleri yolu ile agregasyon, oksidasyon ve LDL komponentlerinin degradasyonunu içeren bir seri modifikasyona uğrar (23).

### 1.2.2. İnflamatuvar Hücrelerin Toplanması

LDL'nin oksidasyonu, lizofosfatidilkolin gibi modifiye lipidlerin salınımına yol açar. Bu lipid türlerinin bazıları endotelyum hücrelerini aktive eden sinyal molekülleri olarak rol oynayabilir (24). Bu durum lökosit adezyon molekülü olan, damar hücresi adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) ekspresyonuna yol açar. VCAM-1 monositler ve T lenfositler için reseptördür (25). Böyle hücreler, bir karşı reseptör olan, çok geç aktivasyon molekülü-4'ü (VLA-4) taşırlar. VLA-4, damar yüzeyindeki belli matriks proteinlerine ve VCAM-1'e bağlanabilir. VCAM'in bağlanması diğer adezyon moleküllerinin etkileşimleri ile uyumlu olarak, monositlerin ve T hücrelerinin lipid birikim ve modifikasyon bölgelerinde endotelial yüzeye yapışmasına yol açar (26).

Kemokinler, makrofajlar, endotelial hücreler ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Mekanizması tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen bunların indüksiyonu, lipid birikimi ve oksidasyonu ile ilişkilidir (26). Ayrıca okside kolesterol agregatları kemotaktik sinyalleri de üreten kompleman aktivasyonunu uyarır (14). Her iki uyarı mononükleer hücrelerin endotel tabakasının intersellüler yarıklarından subendotelial intima içine göçünü başlatabilir.

Lipid dışında diğer uyarıların endoteliumu aktive etmesi ve intimaya lökositlerin toplanmasını başlatması olasıdır. Özellikle hücre hasar esnasında görülen ısı şok proteinlerinin, endoteliumu aktive ettiği ve monositlerin ve T hücrelerin girişini başlattığı gösterilmiştir (27).

İntimada monositler makrofajlara dönüşür. Bu süreç aktive damar hücreleri tarafından üretilen sitokin monosit koloni uyarıcı faktör (M-CSF) tarafından başlatılır. Ateromda makrofaj aktivasyonu nitrik oksid, endotelin ve çeşitli eikosanoidler gibi vazoaktif moleküllerin salınmasına neden olur. Makrofajlar okside lipoproteinleri içine alma kapasitesi nedeni ile kolesterolü biriktirir ve lipid dolu köpük hücresine dönüştürür. Köpük hücresi aterosklerozun

prototip hücreleridir. Aktive makrofajlar aynı zamanda reaktif oksijen metabolitleri de üretir. Bu üretim, lipoprotein oksidasyonu ve sitotoksikite gibi sonuçlara neden olabilir. Aktive makrofajlar matriks komponentlerini parçalayan proteolitik enzim salgılar. Matriks komponentlerinin kaybı plak destabilizasyonu ile plağın rüptür ve tromboz riskini artırır (10).

### **1.2.3. Oluşan Lezyonda T Hücreleri ve İmmun Reaksiyonlar**

#### **1.2.3.1. Antijenler ve İmmun Aktivasyon**

T hücreleri makrofajlar gibi arteriyel intimaya, aktive olmuş endotelyuma bağlandıktan sonra girerler. Tanıdıkları antijen bulunursa T hücreleri, oluşan lezyon içinde aktive olurlar. B hücrelerinin tersine T hücreleri serbest çözünebilir antijeni tanıyamazlar, antijenin bağlanmış ve major histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerine bağlanmış şekilde sunulmasına gereksinim duyarlar. İnsan aterosklerotik plaklarda CD4+ T hücreler CD8+ T hücrelerden daha fazla bulunmaktadır Plakta antijen sunumu büyük ölçüde antijenin makrofaj tarafından alınmasından sonra oluşur. Makrofajlar, MHC sınıf II moleküllerine bağlı antijen parçalarını sunarlar. Bu antijen-MHC kompleksleri plakta önde gelen T hücre tipi olan CD4+ T hücreleri tarafından tanınır (28). Tanınma intrasellüler sinyallerin zincir şeklinde bir reaksiyonu olan aktivasyona neden olur. Bu durum otokrin büyüme faktörlerinin üretimi, DNA sentezi, T hücrelerin bölünmesi, sitokinlerin salınması ve bazı vakalarda sitotoksik özelliklerin gelişmesine neden olur.

İnsanda, T hücrelerin plaktan izole edilmesi ve klonlanması, bunların önemli bir bölümünün okside LDL'i tanıdığını göstermiştir (29). Bu nedenle, LDL oksidasyonla otoantijene dönüşen bir endojen partikül olarak kabul edilebilir. Okside LDL'e karşı antikorlar ateroskleroza olan hastalarda ve hastalığın deneysel modellerinde yüksek titrelerde bulunur. Ancak antikor titrelerinin hastalığın ilerleyiş derecesini gösterip göstermediği bilinmemektedir.

Ateroskleroz için okside LDL'e ek olarak diğer bazı aday antijenler öne sürülmüştür (29). Bunlar Tablo 3'de gösterilmiştir. Isı şok proteini 60, Chlamydia pneumoniae proteinleri ve

okside LDL gibi bazıları sadece T bağımlı antijenler olarak görev yapmazlar, aynı zamanda, inflamasyonu başlatmak üzere doğrudan makrofajlar üzerinde etki ederler.

**Tablo 3:** Aterosklerozda aday antijenler

Aterosklerozda aday antijenler		
Antijen	Tip	Saptanan immün yanıt
Okside LDL	Otoantijen	Lokal ve sistemik Hücreyel ve hümorale
Isı şok proteini 60	Otoantijen, mikrobiyal ajanlarla çapraz reaksiyon gösterir.	Lokal ve sistemik Hücreyel ve hümorale
Chlamydia pneumoniae	Mikrobiyal	Sistemik Hücreyel ve hümorale
Cytomegalovirus	Viral	Sistemik Hücreyel ve hümorale
Herpes simplex Tip I	Viral	Sistemik Hücreyel ve hümorale

### 1.2.3.2. İmmün Sitokinler ve Efektör Mekanizmalar

Sitokinler doğal ve kazanılmış immünitede rol oynayan bir protein ailesidir. Temel olarak lökositler tarafından sentezlenmeleri ve lökositler üzerinde etki göstermeleri sebebiyle “İnterlökin=IL” olarak isimlendirilmiştir. İnfamasyon veya antijen ile uyarı sonrasında gelişen yanıt sürecinde sentezlenir ve temelde lokal olarak etki gösterirler.

Aktivasyondan sonra üretilen T hücre sitokinleri, makrofajları, endotelial ve düz kas hücrelerini aktive eden proinflamatuvar sitokinlerdir. Ama aynı zamanda inflamasyonu baskılayabilir ve fibrozisi başlatabilirler. Değişik T hücre alt grupları farklı fonksiyonel yanıtla yol açan farklı sitokin grupları üretirler (Tablo 4). Aterom plağında T hücrelerinin çoğu makrofaj aktivasyonu ve inflamasyona neden olan Th1 tipindedir (29). En önemli Th1 sitokini, önemli vasküler aktivitesi bulunan interferon-gamma’dır, bunun yanında IL-12 ve IL-18 yer alır (28- 31). IFN- $\gamma$ , adezyon moleküllerinin eksprese edilmesi için endotelial

hücrelerini aktive eder, prokoagulan aktiviteyi başlatır, düz kas hücrelerinin kollagen ve aktin yapmasını baskılar ve damar duvarında hücre bölünmesini kontrol eder. Fagositozu arttırmak üzere makrofajı uyarır, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin-1 (IL-1) gibi inflamatuvar sitokinleri salgılar, proteolitik enzimleri açığa çıkarır ve büyük miktarlarda toksik oksijen ve nitrik oksid radikalleri üretir. Rekombinant IFN-gama uygulaması hiperkolesterolemik farelerde lezyon gelişimini hızlandırdığı görülmüştür (32). Ayrıca, TNF- $\alpha$  prokoagulan aktiviteyi uyarır ve endotelyum yüzeyinde fibrinolitik ve antifibrinolitik faktörler arasındaki dengeyi değiştirir (29). Bütün bu etkiler ateroskerozu uyarır. TNF- $\alpha$ 'nın aterosklerotik lezyonlarda bulunması ve normal dokularda bulunmaması ateroskleroz patogenezinde önemli yeri olduğunu düşündürmektedir.

Th2 sitokinleri arasında IL-4, IL-5, IL-13, IL-3, IL-10 ve GM-CSF (granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör) yer alır. IL-4 ve IL-13 antikor üretimini uyarıcı esas sitokinlerdir. IL-5 eosinofilik infiltrasyon ve antikor salınımına neden olur. IL-4 allerjik reaksiyonlarda önemlidir, aterosklerozda hem B lenfositleri hem de mast hücrelerini stimüle eder. IL-4 aynı zamanda makrofajları aktive ederek matrix degradasyonu ve anevrizma formasyonuna neden olan matrix metalloproteinaz adlı elastolitik enzim sekresyonuna neden olur (7).

Sitokinlerden IL-10 ve TNF- $\alpha$  inflamatuvar reaksiyonda karşı iki uçta rol alır. IL-10 antiinflamatuvar rol oynarken, TNF- $\alpha$  proinflamatuvardır (3,31). Otoregülatuar bir halkada önce TNF- $\alpha$ 'nın IL-10 üretimini arttırdığı, dönüşte TNF- alfa sentezini azalttığı kabul edilir (33). IL-10'un immün ve inflamatuvar yanıtta supresor etkisinin yanında, sitotoksik aktivite ve sitokin sentezi gibi makrofaj fonksiyonlarının inhibisyonu etkileri de vardır. Deneysel olarak, IL-10'un aterosklerotik olayları bloke ettiği görülmüştür ve IL-10'un aterosklerozda, kronik inflamatuvar süreci baskılayabileceği ve tersine döndürebileceği, aynı zamanda trombotik komplikasyonları sınırlayabileceği üzerinde durulmuştur (33,34).

Doğal ve kazanılmış immünitenin elemanı olan sitokinler düşük molekül ağırlıklı, tek bir zincirden oluşan proteinlerdir (Tablo 4). Hücre büyümesi, hücre aktivasyonu, doku onarımı, fibrozis ve morfogenez gibi pek çok biyolojik olayı düzenlerler.

**Tablo 4:** Aterosklerotik lezyonlarda bulunan bazı sitokinler (10)

Aterosklerotik lezyonlarda bulunan bazı sitokinler			
İmmün regüle edici	İnterferon-gamma	T hücreler, NK hücreler	Makrofaj aktivasyonu, inflamasyon, endotel ve düz kas aktivasyonu, NO üretimi
	IL-2	T hücreleri	T hücre proliferasyonu
	IL-4	Th2 hücreleri	Alerjik reaksiyonlar, B hücre aktivasyonu, T hücre proliferasyonu
	IL-12	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Th1 yanıtı indükler
	IL-10	Makrofaj, T hücreler	Th2 uyarısı, Th1 inhibisyonu
Proinflamatuvar	TNF-alfa	Makrofaj, Th1 hücreler, düz kas hücreleri	Adezyon molekülleri, büyüme faktörleri, nitrik oksid sentezi, prokoagulan
	IL-1	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	T hücre aktivasyonu
	IL-6	Makrofaj, T hücresi, endotel ve düz kas hücresi	Akut faz reaktanı, B hücre aktivasyonu
Kemokinler	MCP-1	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Monosit ve T hücrelerini çeker.
	IL-8	Makrofaj, T hücresi, endotel ve düz kas hücresi	Garnüositleri çeker.
Büyüme faktörleri	PDGF	Trombositler, makrofaj, endotel ve düz kas hücresi	Düz kas hücre proliferasyonu



	FGF	Endotel ve düz kas hücresi	Düz kas ve endotelial hücre proliferasyonu
	VEGF	Makrofaj, düz kas hücresi	Endotelial hücre proliferasyonu
	TGF-beta	Makrofaj, endotel ve düz kas hücresi, trombositler	Fibrojenik, antiinflamatuvar
	M-CSF	Makrofaj, T hücresi ve endotel hücresi	Makrofaj diferansiyasyonu
	GM-CSF	Makrofaj, T hücresi ve endotel hücresi	Monosit ve granülosit diferansiyasyonu

FGF: Fibroblast büyüme faktörü, GM-CSF: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü, M-CSF: Makrofaj koloni uyarıcı faktör

Genetik çeşitliliğin işareti olarak incelenebilen tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen ve insan genomunda en sık görülen polimorfizmlerdir. TNP'ler molekülün ekspresyon seviyesini veya proteinin yapısında meydana getirebileceği değişiklikler yoluyla, fonksiyonu etkileyebilir.

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar tipte sitokinlerin pek çok infeksiyon, inflamasyon, otoimmün ve malign hastalığın patogeneze katkısı olduğu gösterilmiştir. Bu noktadan hareketle sitokin genlerindeki polimorfizmlerin, o sitokinin ekspresyonunu etkileyebileceği ve hastalıklara genetik bir yatkınlık oluşturabileceğini gösteren pek çok çalışma yapılmıştır.

Temel olarak immünosupresif ve antiinflamatuvar olan IL-10 doğal immün reaksiyonlar ile hücre aracılı immünitinin homeostatik kontrolünde gereklidir.

### 1.2.3.3. Sitokinlerin İmmün Yanıtta Roller

Sitokinler hem doğal hem de kazanılmış immünitinin elemanıdır. Bu moleküller düşük molekül ağırlıklı olup ( $10^{-10}$ -  $10^{-15}$  molar) tek bir zincirden oluşur. Hücre büyümesi, hücre aktivasyonu, doku onarımı, fibrozis ve morfogenez gibi pek çok biyolojik olayı düzenlerler.

Aynı sitokin birden çok hücre tarafından yapılabilir ve aynı sitokin genellikle farklı hücreler üzerinde farklı etki uyurabilir (pleiotrofizm) (36). Sentezlendikten sonra depolanmaz ve etkilerini lokal olarak gösterirler. Görevlerini, hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlerine bağlandıklarında oluşan özgün sinyaller ile gerçekleştirirler. Farklı sitokinlerin sinerjistik ve antagonistik özellikleri de olabilir (36).

#### **1.2.3.4. Sitokinlerin Sınıflaması**

Sitokinler immün sistemde üstlendikleri rollere göre iki grupta değerlendirilebilir. İnflamatuar cevabın başlangıcında olaya katılacak olan hücreler ve moleküller için gerekli uyarıyı sağlayan sitokinlere “proinflamatuar sitokinler” denilmektedir. Bu gruba dahil olan sitokinler IL-1 $\alpha/\beta$ , TNF- $\alpha$  (tümör nekrozis faktör -alfa), IFN- $\gamma$  (interferon-gama), IL-12, IL-18, IL-15, IL-8 ve IL-23 olarak sıralanabilir. İnflamasyon sonucunda meydana gelen doku hasarının sonlandırılmasında hücrel ve hümorale etki gösteren sitokinler ise “antiinflamatuar sitokinler” grubunda değerlendirilmektedir. IL-1RA (IL-1 reseptör alfa), IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13 ve TGF- $\beta$  (transforming growth factor- beta) bu grupta yer alır (7, 36).

### **1.3. Genetik Organizasyon**

Proteinleri oluşturan aminoasidlerin kodları kromozomlardaki genlerde yer alır. Genler karmaşık bir organizasyona sahiptir. Bir gende aminoasidlerin kodlandığı bölgelere “ekson” denilmektedir. Eksonlar kodlanmayan DNA dizileri olan “intronlarla” kesintiye uğrar. DNA'nın 5' ucundaki transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı bölgeye “promoter” adı verilmektedir. 3'UTR (3' untranslated region) bölgesi ise genin sonunda yer alır ve mRNA kalıcılığını etkileyerek protein miktarının kontrolünü sağlar (7, 36).

#### **1.3.1. Gen Polimorfizmi**

Gen polimorfizmi, aynı genin DNA dizisindeki değişikliklerdir. Bir veya daha fazla bazın diziyeye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) sonucu meydana gelebilir. Polimorfizm bir genin populasyonda

%1 veya daha fazla sıklıkla rastlanan çeşidinin (allellerinin) bulunmasını tanımlamak için kullanılır. Bundan daha az rastlanan alleller mutasyon olarak adlandırılır ve polimorfizmlere göre çok daha nadirdir (36).

Polimorfizmler iki ana grupta incelenmektedir.

1. Tek nükleotid polimorfizmi/ TNP (Single nucleotid polymorphism: SNP)
  2. Değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı (Variable number tandem repeat: VNTR)
- (36- 38).

### **1.3.1.1. Tek Nükleotid Polimorfizmi (TNP) = SNP**

TNP'ler tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen ve insan genomunda en çok görülen polimorfizmlerdir. TNP'ler genomda yaklaşık her 1000 bazda bir tane olacak sıklıkla bulunurlar. TNP'ler, molekülün ekspresyon seviyesini veya protein yapısında meydana getirebileceği değişiklikler yoluyla da fonksiyonunu etkileyebilirler (36- 38).

### **1.3.1.2. Mikrosatellitler**

Değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı (Variable number tandem repeat: VNTR)'lerin en sık incelenen bir alt tipi "kısa tekrar edilen dizi= mikrosatellit" tir. Mikrosatellitler genomda tekli, ikili, üçlü, dördü tekrarlanan ardışık kısa DNA dizileridir (TGTG...TG, CAACAA...CAA, AAATAAAT...AAAT gibi). Mikrosatellitler popülasyonlarda bireyden bireye farklı sayıda nükleotid tekrarları gösterirler ve genom içerisinde rastgele dağılmışlardır (36- 38).

### **1.3.2. Polimorfizmlerinin Önemi**

Bir polimorfizmin etkisi, o polimorfizmin yerleşimine bağlıdır. Genin kodlanan bölgesinde meydana gelen farklılıklar protein dizisini etkileyebileceğinden protein yapısı ve fonksiyonu değişebilir. Ayrıca proteinin kodlayan bölgenin dışında, genin sonundaki düzenleyici bölgede veya intronik dizilerde de pek çok nükleotid değişiklikleri görülebilir. Genin promoter bölgesinde transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için uygun DNA motifleri vardır. Bu bölgede meydana gelen polimorfizmler transkripsiyon faktörlerinin bağlanmalarını veya

bağlanma etkinliklerini değiştirebilir. Böylece genin transkripsiyon aktivitesi artabilir veya azalabilir. mRNA kopyasının kalıcılığını ve dayanıklılığını ise 3'UTR bölgesi etkiler. Bu bölgedeki polimorfizmler, mRNA kalıcılığını düzenleyen proteinlerin mRNA'ya bağlanmasını ve sentez edilen protein miktarının değişmesine sebep olabilir.

### **1.3.3. IL-10 Gen Polimorfizmi ve Hastalık İlişkileri**

Hastalıkları ile polimorfizmlerinin ilişkisini inceleyen çalışmalarda polimorfik noktalardaki değişikliklerin gen ürünüde meydana getirdiği olası farklılıklar ve sonuçta değişikliğe uğrayan bu yeni ürünün hastalık patogenezindeki olası katkısı araştırılmaktadır. Bu çalışmalarda kullanılan hasta ve kontrol grubunun etnik kökeni önemlidir. Çünkü genetik çeşitlilik, farklı etnik gruplarda farklı allel frekanslarının ve farklı hastalık risklerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Dolayısıyla oluşan polimorfizmlerin hastalık üzerindeki etkileri de çalışma grubunun etnik kökenine bağlı olarak değişebilir (36- 39).

## **1.4. Interlökin-10 (IL-10)**

### **1.4.1. Interlökin-10 Protein Yapısı**

İnsan IL-10'u yaklaşık 178 aminoasidden oluşan 36 kDa ağırlığında bir homodimerdir ve fare IL-10'u ile %73 oranında benzerlik gösterir. Dolaşımdaki IL-10 miktarı ise yaklaşık 0.5 pg/ml'dir (36- 43). IL-10, moleküler yapısı V şeklinde olan nonkovalan bağlı bir dimerdir. Bu dimerin her bir kolu uzun ya da kısa olabilen altı  $\alpha$ -heliksten oluşur. Bu helikal yapılar molekülün dimerizasyonunu sağlar. Alt ünitelerden her biri A-B-C-D-E'-F' denen  $\alpha$ -helikslerden oluşmaktadır. A-C-D-F'  $\alpha$ -helikslerinin oluşturduğu tipik demet aslında IL-4 ve GM-CSF gibi helikal sitokinlerde de bulunmaktadır. Molekülün karboksi-terminal kısmı E ve F  $\alpha$ -helikslerinden oluşmakta ve dört-heliks alt üniteden oluşan (A-D) amino-terminal kısmın içine doğru uzanmaktadır. IL-10 bu molekül yapısıyla tıpkı IFN- $\gamma$ 'ya benzemektedir (40).

### **1.4.2 IL-10 Reseptörü**

IL-10'un 110 kDa'luk protein yapısındaki reseptörü "cytokine receptor family class II" (CFR2) tipindeki reseptörlerdendir (IL-10R=CDw210) (40- 43). Bu reseptör ailesinin üyeleri ekstrasellüler kısımlarında korunmuş aminoasid kalıntıları taşır. Buna karşılık, transmembran ve intrasellüler kısımlarında ise homoloji bulunmamaktadır (40- 43).

IL-10R, IL-10R1( $\alpha$ ) ve IL-10R2( $\beta$ ) (CRF2-4) olmak üzere iki farklı reseptör zincirinin oluşturduğu bir kompleks yapısındadır (41). IL-10R1, komplekste ligand bağlayıcı olarak görev yapan alt ünedir ve 578 aminoasidden oluşur. Gen ise 11. kromozom uzun kolu üzerindedir. IL-10R2 alt ünitesi de sinyal iletimi için yardımcı olur ve geni 21. kromozomda yer alır (36- 43).

### **1.4.3. IL-10 Sinyal İletimi**

IL-10 reseptör ligand bağlanması ardından "Janus" ailesi kinazlarından JAK1 ve Tirozin kinaz 2 (Tyk2) aktivasyonu ve bir transkripsiyon faktörü olan "signal transducer and activator transcription" (STAT)'ın fosforilasyonu meydana gelir. Reseptörün  $\alpha$  alt ünitesi genellikle STAT3'ün bağlanma bölgesidir ve sinyal iletiminin ilk basamağını oluşturur. Ardından STAT3 nükleusa, yani transkripsiyonunu sağlayacağı gen bölgesine hareket eder (44).

IL-10 in vitro makrofaj aktivasyonu ve monokin yapımı üzerine olan inhibe edici etkisini nuclear factor kappa B (NF $\kappa$ B) aktivasyonunu inhibe ederek göstermektedir. Bununla beraber CD8+ T hücreler ve NK (natural killer cell=doğal öldürücü hücreler ) üzerine olan etkisini ise AP-1 ve NF $\kappa$ B' yi aktive ederek gösterir (41- 44).

### **1.4.4. IL-10 Salgılayan Hücreler**

IL-10 T hücresi (yardımcı, sitotoksik ve düzenleyici), B hücresi, monosit, makrofaj, keratinosit, mikroglia, NK, eosinofil ve dendritik hücreler tarafından salgılanmaktadır (36, 44).

#### 1.4.5. IL-10 Etkileri

IL-10, temel fonksiyonu immüno-supresyon ve antiinflatuar olan immüno-regülatör bir sitokindir. Doğal immün reaksiyonlar ile hücre aracılı immünitinin homeostatik kontrolünde gereklidir (7).

IL-10'un immün düzenleyici aktivitesi yardımcı T lenfosit grupları ve B lenfosit gelişimi üzerinde gösterdiği etkilerle anlaşılabilir. Bu etkileri IL-4 yapan Th2 hücrelerinin uzun süreli ekspansiyonu ve CD80/CD86 seviyesinin azaltılması ile gelişebilmektedir. Antiinflatuar aktivitesinde ise TNF- $\alpha$  ve/veya IFN- $\gamma$  sentezini azaltıcı etkileri gibi sitokinlerin sentezini azaltırken, antijen sunumunu ve antijen spesifik T hücre proliferasyonunu inhibe eder (36-43).

IL-10, NK hücrelerinin güçlü bir uyarıcısıdır ve NK hücre aktivasyonunu artırırken, hücre yıkımını da kolaylaştırmış olur. Ayrıca IL-10, doğal ve kazanılmış bağışıklık arasında bağlayıcı görev üstlenir. Bu işlevin antijen sunucu hücreler (ASH) için patojenlerin ve ölü hücre artıklarının temizliğine katkıda bulunarak yapar. Çünkü IL-10'un indüklediği monosit ve makrofajlar antikor bağımlı sitotoksiste ve opsonize edilmiş partiküllerin fagositozundan sorumludur (42-44).

İnsan monositlerinde IL-10 ve IFN- $\gamma$  birbirlerinin yapım ve fonksiyonları üzerine antagonistik etki gösterir.

IL-10, aktif monositlerde, dendritik hücreler, monosit, nötrofil ve T hücre çağrısı sağlayan kemokin yapımını inhibe ederek anti-inflamasyonu sağlar. IL-10, monositler üzerindeki formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) ve PAF reseptörü ile CCR1, CCR2 ve CCR5 ekspresyonunu artırarak bu hücrelerin kemokinlere duyarlı hale gelmesini sağlar (44).

Tüm bu antiinflatuar etkilerine ek olarak aktif monositlerce yapılan IL-10, IL-1RA ve çözünür TNFRp55 ve p75 yapımını arttırarak da düzenleyici bir rol oynar.

Hücre içi siklooksijenaz-2'nin ekspresyonunu azaltıp prostoglandin E<sub>2</sub> yapımının inhibe edilmesi de, IL-10'un etkileri arasında sayılabilir. Bu etki hücrede matriks metalloproteinazların inhibisyonuna yol açar. IL-10 ateroskeroz gibi inflamasyonun önemli olduğu vasküler bir patolojide de hem erken hem de ileri evre aterosklerotik plaklarda eksprese olur ve lokal inflamatuvar süreci sınırlandırır (44, 45).

#### **1.4.6. IL-10 Genetik Özellikleri ve Polimorfizmleri**

IL-10 geni insanda 1. kromozomun uzun kolu üzerindedir (1q31-q32) ve 5 ekzondan oluşur (7). Fare geni ile %81 oranında benzerlik gösterir (44).

İlk olarak Westendorp ve arkadaşlarının 1997 yılında yaptığı çalışmada IL-10 yapımında genetik katkının %75 olduğu ve artmış IL-10 yapımının fatal meningokokal hastalık geliştirme riskini de 20 kat arttırdığı saptanmıştır (47).

IL-10 yapımına genetik ve çevresel faktörlerin katkısına yönelik bir diğer çalışma ise monozygotik ve dizigotik ikizlerde yapılmıştır. Bu çalışmada lipopolisakkarid (LPS) ile uyarılan tam kanda IL-10'un yapım miktarı araştırılmıştır. IL-10 promoter polimorfizmleri ile nükleer faktörlerin bağlanma etkinliği ve transkripsiyon aktivitesi arasındaki ilişki de incelenmiştir. Bu ikiz çalışmasında, IL-10 yapımında genetik katkının %50 olduğu gözlenmiştir. Ayrıca kadınların erkeklere göre daha düşük IL-10 yaptığı ve sigara içimi ile azalan vücut kitle indeksi gibi çevresel faktörlerin de IL-10 yapımını baskıladığı tesbit edilmiştir (48). IL-10 -1082 A allelinin PU.1 transkripsiyon faktörüne yüksek bağlanma afinitesi olduğu ve düşük transkripsiyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (48).

IL-10 promoter bölgesinde iki ayrı mikrosatellit polimorfizmi gösterilmiştir: IL-10G ve IL-10R. Bunlar "CA" dinükleotid tekrarlarıdır. Bu mikrosatellitlerin alleleri, G için 1-14 tekrar, R için ise 1-7 tekrar olarak belirlenmiştir. Eskdale ve arkadaşları, LPS ile uyarı sonucu IL-10 yapımının bireyler arasında oldukça değişken olmasından yola çıkarak, IL-10 promotorundaki mikrosatellit allelerinin dağılımını sağlıklı bir grupta incelemişlerdir. IL-

10R3 allelini içeren haplotipler düşük IL-10 yapımı ile, IL-10R2 alleli ise yüksek IL-10 salgısı ile ilişkili bulunurken, R2/G14 haplotipinde IL-10 yapımında artma, R3/G7 haplotipinde ise tersine yapımda azalma tesbit edilmiştir (49).

Bugüne kadar IL-10 geni içinde belirlenen TNP noktaları ise şunlardır: IL-10 promoter polimorfizmleri (49).

#### Distal Promoter

-3715 (A→T)

-3575 (T→A)

-2849 (G→A)

-2776 (A→G)

-2763 (C→A)

#### Proksimal Promoter

-2100 (C→A)

-1330 (G→A)

-1082 (G→A)

-819 (C→T)

-592 (C→A)

1.ekson polimorfizmi

- +78 (G→A)

3.intron polimorfizmi

- +19 (C→T)
- +953 (T→C)

3' ucunun yakınındaki= flanking bölge polimorfizmi

- +117 (C→T)

Proksimal promoterin -1082 G/A , -819 C/T ve -592 C/A pozisyonlarındaki TNP'ler, üzerinde en fazla çalışılanlardır. Bu 3 polimorfik noktanın değişkenlikleri yanında, sık rastlanan allel kombinasyonlarının varlığı ile bu gendeki kuvvetli bağlantı dengesizliği de doğrulanmıştır.

Lazarus ve arkadaşları IL-10'un promoter, intron, ekson ve 3' ucunun yakınındaki bölgede yer alan toplam 28 TNP'yi 3 farklı etnik popülasyonda taramışlardır. Bu çalışmada frekansları >%5 olan 14 TNP'nin tüm popülasyonlarda gözlemlendiği ve nükleotid değişikliklerinden hiçbirinin aminoasid değişikliğine sebep olmadığı bulunmuştur (39).



Polimorfizmlerin fonksiyonel önemine yönelik olarak ise Turner ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada concovalin A (conA) ile uyarı sonucunda, IL-10 -1082 pozisyonunda A alleli taşımayan bireylerde bu alleli taşıyanlara göre IL-10'un anlamlı olarak düşük seviyede yapıldığı bulunmuştur. Aynı noktada G allelinin bulunmasının da yüksek IL-10 yapımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Aynı alışma sıklıkla birlikte geçen allellerden oluşan haplotiplerin -1082, -819 ve -592. noktalarında GCC, ACC ya da ATA allelini taşıyan kombinasyonlar olduğunu göstermiştir. Ancak salgı düzeyinin yalnızca -1082 alleli ile belirlendiği bildirilmiştir (48).

## BÖLÜM II

### GEREÇ VE YÖNTEM

#### 2.1. Örneklerin Seçimi

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalında Temmuz 2005 - Nisan 2006 tarihleri arasında Koroner Arter Hastalığı (KAH) tanısı konan 86 hasta (60 erkek, 26 kadın) ve kontrol grubu olarak sağlıklı 88 bireyin (63 erkek, 25 kadın) çalışma grubunu oluşturmuştur.

#### 2.2. Koroner Arter Hastalığı Tanısı

Koroner arter hastalığı tanısı 3 major koroner arter veya ana dallarından en az birinde anjiyografik olarak %50'den fazla stenoz varlığında kondu. ST segment elevasyonu 12 derivasyonlu standart elektrokardiyografide 2 veya daha fazla derivasyonda 0.1 mV'dan fazla elevasyon olarak tanımlandı. Elektrokardiyografik olarak ölçülen ejeksiyon fraksiyonu %70 ve üzerinde normal kabul edildi.

#### 2.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

6-8 saat açlık sonrası hastalardan bir tüp EDTA'lı, bir tüp düz kan alındı. Düz tüpe alınan kanlardan plazma lipid seviyeleri analiz edildi. EDTA'lı kanda IL-10 gen polimorfizmleri çalışıldı.

##### 2.3.1. Serum lipid tayini ve değerlendirilmesi

Serum lipid düzeyleri " Beckmann Colter CX9 " cihazında çalışıldı. Aşağıda belirtilen değerlere göre sonuçlar yorumlandı.

**Tablo 5 :** Serum lipidleri ve normal değerleri

SERUM LİPİDLERİ	NORMAL DEĞER
Kolesterol	< 200 mg/dl
Trigliserid	< 150 mg/dl
LDL	< 130 mg/dl
HDL	> 35 mg/dl

### 2.3.2. Kandan DNA İzolasyonu

#### Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi

- İnvisorb spin blood kit (İNVİTEK)
- Filtreli tüpler
- Receiver tüpleri
- Eppendorf tüpleri
- Proteinaz K
- Lysis buffer A
- Binding buffer B6
- Wash buffer I
- Wash buffer II
- Elution buffer D
- Etanol(%95–99)
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl, Eppendorf)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Vorteks (Heidolph Reaks Top)
- Santrifüj (Sigma 1–15)
- Su banyosu (Nüve BM 302)
- Steril eldiven

EDTA'lı tüpe alınan periferik kan lenfositlerinden DNA izole edilmiştir. İzolasyon İnvisorb spin blood kit (İnvitek) (ürün no:630 00 41) ile gerçekleştirildi. EDTA'lı tüplerden 200 µl kan eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerine 20 µl proteinaz K ve 200 µl Lysis buffer A eklenerek 10-15 saniye vortekslendi 56 °C su banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Aynı zamanda Elution buffer D' de 56 °C su banyosuna örnek miktarına yetecek kadar ısınması için bırakıldı. Spin filtreler, Receiver tüplerine yerleştirildi. Daha sonra üzerine 400 µl Binding buffer B6 eklendi ve filtreli tüplere aktarıldı. Filtreli tüpler içerisinde oda sıcaklığında 1dakika inkubasyona uygulandı. Bu filtreli tüpler 1 dakika sonra 12000 rpm de 2 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj işlemi bitiminde filtreler Receiver tüplerinden çıkarıldı ve receiver tüpleri boşaltıldı. Filtreler tekrar Receiver tüplerine yerleştirildi ve filtrelerin üzerine 500 µl Wash buffer I eklenerek tekrar santrifüje yerleştirildi.12000 rmp de 1 dakika santrifüj işlemi

uygulandı ve tekrar Recevier tüpleri boşaltıldı. Filtrelerin üzerine Wash buffer II solusyonu eklendi ve 12000 rpm de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj işlemi bitiminde Recevier tüpleri boşaltılarak maximum rpm de 4 dakika kuru santrifüj işlemi uygulandı ve filtreler Eppendorf tüplerine alındı.

Bu işlem bitimi sonucunda daha önce 56 °C su banyosunda bekletilmiş olan Elution buffer D her örnek için 200 µl olmak üzere filtrelerin üzerine bırakılarak ve 3 dakika oda sıcaklığında inkubasyonda bekletildi. Inkubasyon bittikten sonra 10000 rpm de 1 dakika santrifüj yapılarak DNA izolasyon aşaması bitirildi. DNA izolasyon başarısı %1' lik agaroz jelde kontrol edildi. (23<http://www.invitek.de>.)

### **2.3.3. DNA Amplifikasyonu**

#### **Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi**

- Termal cycler (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9600)
- Otomatik pipetler (1–10 µl ve 10–100 µl)
- Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Brand)
- 0.5 ml'lik ve 1,5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
- 0,2 µl lik PCR tüpleri (Axygen)
- Eppendorf tüp taşıyıcıları
- Otoklav (Hirayama)
- Otoklav bantı (Sussex)
- Steril kavanozlar
- Steril eldivenler
- Buz kalıbı
- Kâğıt havlu
- Deiyonize su
- Mineral yağ (Sigma M–5904 Lot 38H0021)
- Taq DNA Polimeraz (Fermentas #EP402 Lot 4835)
- MgCl<sub>2</sub>(Fermentas Lot4835)
- 10X PCR Buffer (Fermentas Lot 4835)
- 100 mM Tris HCl (pH: 8.-25<sup>0</sup>C de)
- 500 mM KCl
- %0.8 Nonidet P4O
- dNTP karışımı (MBI- Fermentase)

20 mM dATP

20 mM dGTP

20 mM dCTP

20 mM dTTP

Primerler:

—1082G/A

F: CCAAGACAACACTACTAAGGCTCCTTT

R: GCTTCTTATATGCTAGTCAGGTA

—592 C/A

F: CAACTTCTTCCACCCCATCTTT

R: GTCGGCTAAATATCCTCAAAGTT

### 2.3.3.1 Primerlerin Sulandırılması

Liyofilize durumdaki primerlere kullanma talimatında belirlenen miktarda su eklenerek ve 100 pmol/  $\mu\text{l}$  'lik stok çözelti hazırlandı. PCR işleminde kullanılmak üzere stoktan 5 pmol/  $\mu\text{l}$  'lik konsantrasyonu olan 100  $\mu\text{l}$  'lik çözeltiler hazırlandı ve her PCR işlemi için dilusyondan 2  $\mu\text{l}$  kullanıldı.

### 2.3.3.2 Reaksiyon Karışımı

Her bir örnek için hazırlanan total PCR reaksiyon karışımı 25  $\mu\text{l}$  'dir.  $\text{H}_2\text{O}$ , 10X buffer,  $\text{MgCl}_2$  (25mM), dNTP (4x25  $\mu\text{mol}$ ), primerler ve Taq polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi. Bu karışımın üzerine buharlaşmayı engellemek için 30  $\mu\text{l}$  mineral yağ eklenerek amplifikasyon gerçekleştirildi.

$\text{H}_2\text{O}$	10,25 $\mu\text{l}$ .
Buffer	2,5 $\mu\text{l}$ .
$\text{MgCl}_2$	1,75 $\mu\text{l}$ .
dNTP	1,2 $\mu\text{l}$ .
IL10	
F	2 $\mu\text{l}$
R	2 $\mu\text{l}$ .
Taq polimeraz	0,3 $\mu\text{l}$ .
DNA	5 $\mu\text{l}$

### 2.3.3.3 İzlenen PCR Programı

Denatürasyon 95 °C 3 dakika 1 döngü

Denatürasyon 94 °C 45 saniye	}	30 döngü
Bağlanma 60 °C 45 saniye		
Uzama 72 °C 1 dakika		
Final uzama 72 °C 5 dakika	}	1 döngü

Amplifikasyon ürünleri PCR programı bittikten sonra +4 °C'de saklandı. Isıyı sabit tutabilmek için PCR işlemi gerçekleştirilirken oda sıcaklığı +20 °C 'de tutuldu.



Şekil 5: PCR aleti (Gene Amp PCR System 9700)

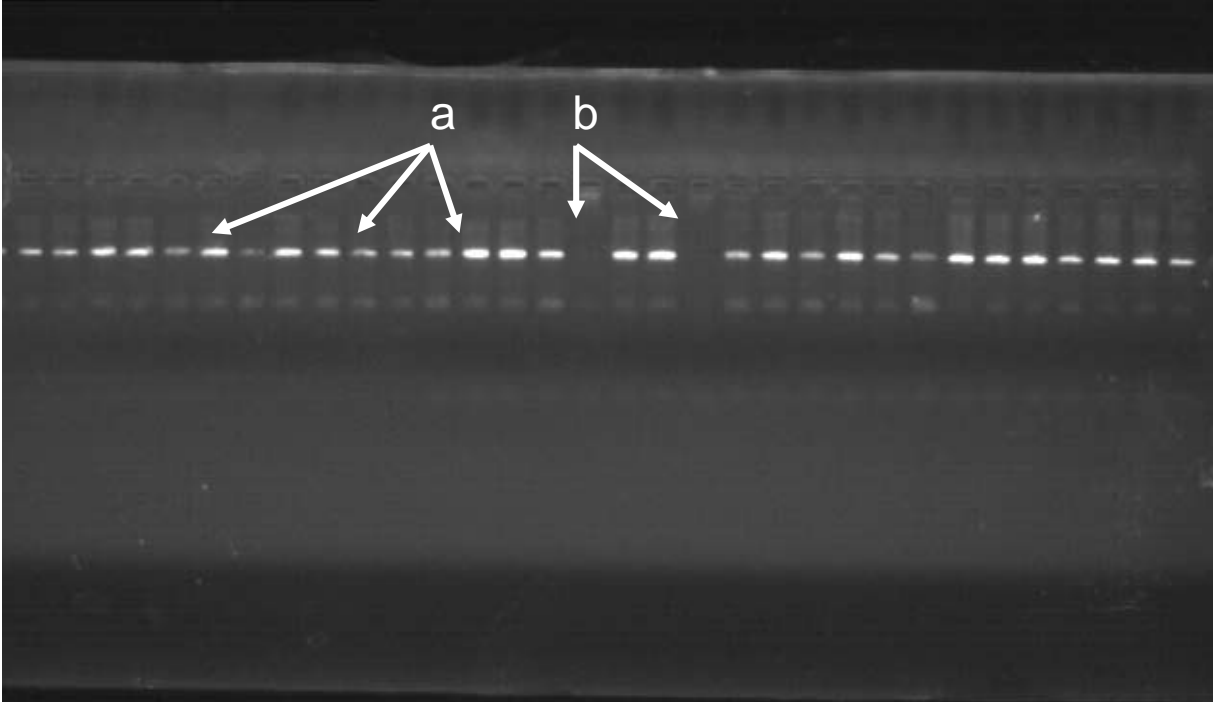
### 2.3.3.4. Agaroz Jel Elektrofrez

#### Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi

- Yatay elektroforez (Thermo Midicell)
- Güç kaynağı (Desaga, PS600 Fransa)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Erlen mayer
- Mezürler (50 ml, 100 ml, 500 ml)
- Pipetler (2 ml, 1.5 ml, 10 ml)
- Pens ve çeşitli boyutta cam şişeler
- Alüminyum folyo ve streç film

- Buzdolabı ve derin dondurucu (Bosch)
- Manyetik karıştırıcı (Icamag)
- Agaroz (Sigma, A5093 Lot 51K01131)
- Tris baz (Sigma, T8524 Lot 39H5439)
- Borik asit (Carlo erba, Code No 302177)
- Etidyum bromür (Sigma)
- Na-EDTA (Sigma, E5134 Lot 112K0765)
- Orange G (Biological Industries Lot 204804)
- DNA markır (Fermentas, O'Range Ruler 100bp DNA Ladder)
- Deiyonize su
- Görüntüleme cihazı (VilberLourmat, Marne La Valle, France)
- Tartı (Scaltec, Max.3200 g. d=0,01gr.)
- pH metre (Jenway)

86 KAH'da ve 88 sağlıklı kontrol grubunda IL-10 -1082 ve - 592 bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun olup olmadığının kontrolü % 2'lik agaroz jelde yapıldı. Öncelikle yatay elektroforez tabağının etrafı otoklav bandı ile bantlandı ve tabağa uygun tarak yerleştirildi. 100 ml'lik Erlen içerisine 1 gr agaroz ve 100 ml 0,5xTBE konulup erlenin ağzı alüminyum folyo ile kapatıldı. Folyo üzerinde birkaç küçük delik açılıp bu karışım berraklaşınca kadar mikrodalga fırında eritildi. Berraklaştıktan sonra 15 µl etidyum bromür eklenip karıştırıldı ve hazırlanan tabağa döküldü. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken; bir parça parafilm üzerinde 5µl orange G (yükleme tamponu) ve 8 µl PCR ürünü karıştırılıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için her jele markır yüklendi. 120 voltta 3 cm yürütüldükten sonra jel görüntüleme sisteminde incelendi.



**Şekil 6:** IL-10 -1082 ve - 592 bölgesi PCR ürünü amplifikasyonun kontrol analizine ait jel görüntüsü

A: PCR ürünlerinde amplifikasyonun olduğu ürünler

B: PCR ürünlerinde amplifikasyonun olmadığı PCR'ı tekrar edilen ürünler

#### 2.3.4. DNA'nın Enzimatik Kesim İşlemi

##### Gerekli Alet ve Kimyasallar Listesi

- Su banyosu (Nüve BM 302)
- XagI(EcoNI) (Katalog no: ER1301)
- RsaI (Katalog no: ER1121)
- Buffer O(Fermentas)

PCR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinden amplifikasyonun oluşum kontrolü yapıldıktan sonra enzimatik kesim işlemi yapıldı. IL-10 -1082 bölgesi PCR ürünü 377 bp'dir. XagI enzimi ile -1082G spesifik PCR ürünü kesildiğinde 253 bp, 97 bp ve 27 bp boyutları verirken -1082A spesifik PCR ürünü ile kesildiğinde 280 bp ve 97 bp'lik boyutları verir. IL-10 -592 bölgesi PCR ürünün 477 bp'dir. RsaI enzimi ile -592C spesifik PCR ürünü kesildiğinde 311 bp, 116 bp, 42 bp ve 8 bp



boyutları verirken -592A spesifik PCR ürünü kesildiğinde 240 bç, 116 bç, 71 bç ve 42 bç boyutları verir.IL-10 genindeki promotor bölgeye ait -1082 G/C ve – 592 C/A polimorfizme ait agaroz jel elektroforezine ait örnekler Şekil 7 ve 8’de verilmiştir. En geniş bant aralığının gözleendiği bireye ait amplifikasyon ürünü her poliakrilamid jele konarak bant ayrımının standardizasyonu sağlanmıştır

#### Kesim Koşulları

##### XagI Kesimi

PCR ürünü 10 µl

Buffer 2 µl

Enzim 1 µl

H<sub>2</sub>O 3 µl

##### RsaI Kesimi

PCR ürünü 10 µl

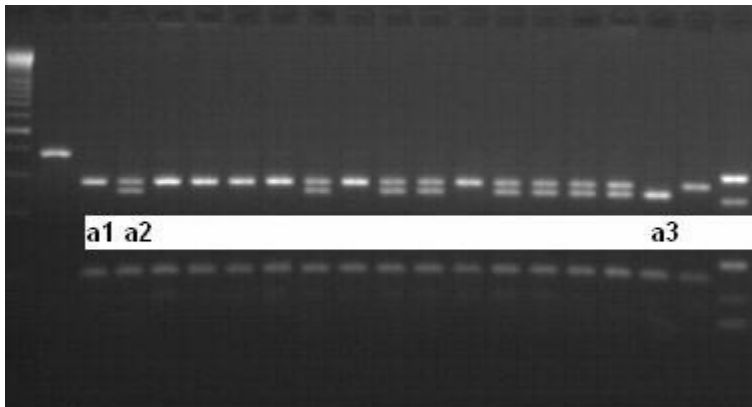
Buffer 2 µl

Enzim 1 µl

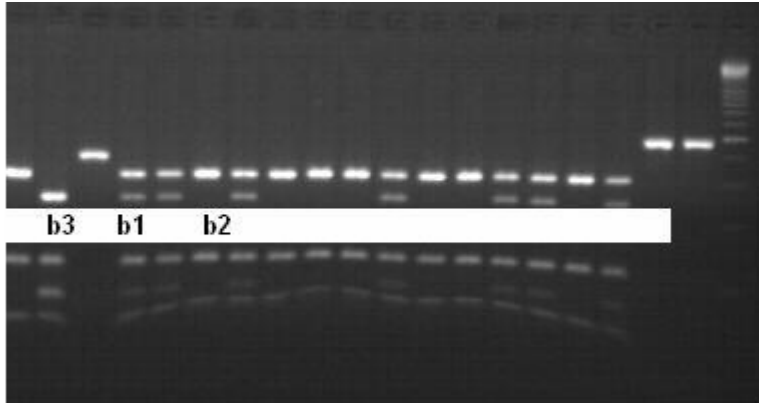
H<sub>2</sub>O 3 µl

37<sup>0</sup>C 16 saat  
inkübasyon

Kesim yapılmış PCR ürünlerinde kesim olup olmadığının kontrolü % 3.5'lik agaroz jelde yapıldı(Örnekler jele yüklenirken). Kesim ürünlerinin üzerine 5µl orange G (yükleme tamponu) eklendikten sonra 13 µl'si jeldeki kuyucuklara yüklendi. Yürüyüş panallerine göre görüntülenerek değerlendirildi.



**Şekil 7:** IL-10 geni -1082 bölgesinin enzim kesim analizinde a3( -1082GG), a2( -1082GA), a1( -1082AA) genotiplerine ait jel görüntüsü



**Şekil 8:** IL-10 geni -592 bölgesinin enzim kesim analizine b2( -592CC), b1( -592CA), b3 (-592AA) genotiplerine ait jel görüntüsü

#### 2.4. İstatistiksel Analiz

IL-10 polimorfik allel'inin frekansı KAH hastalarında ve kontrol gruplarında SPSS 9.0 istatistik programında chi-kare testlerinin yardımıyla karşılaştırılmıştır ve  $<0.05$  olan p değerleri (iki yönlü) istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubu allel sıklığı Hardy-Weinberg Eşitliliğine göre normal dağılım göstermektedir. (Hasta grubu HWE: 0,0266 ve p:0,61, kontrol grubu HWE: 0,5586 ve p:0,45) Hasta grubundaki IL-10 -1082 G/A polimorfizmi için "A" alleli sıklığı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamadı (p: 0,713) (Tablo 41).

**Tablo 6:** IL-10 -1082G/A polimorfimi allel sıklığı ve Hardy-Weinberg Eşitliliği

IL-10	G	A	p	$\chi^2$	HWE	p
-1082 G/A						
HASTA	0.6232	0.3768	0,713	0,238	0.0266	0.61
KONTROL	0.6565	0.3535			0,5586	0,45

Hasta ve kontrol grubu allel sıklığı Hardy-Weinberg Eşitliliğine göre normal dağılım göstermektedir. (Hasta grubu HWE: 0.113 ve p:0,06, kontrol grubu HWE: 0, 0899 ve p:0, 73) Hasta grubunda IL-10 -592C/A polimorfizmi için “A” alleli sıklığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu (p: 0,036) (Tablo 42).

**Tablo 7:**Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A Allel sıklığı ve Hardy-Weinberg Eşitliliği

<b>IL-10</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>P</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>HWE</b>	<b>p</b>
<b>-592 C/A</b>						
<b>HASTA</b>	0.6376	0.3624			0,113	0,06
<b>KONTROL</b>	0.7878	0.2222	0,036	4,613	0,0899	0,73

## BÖLÜM III

### BULGULAR

Koroner arter hastalarından oluşan olgu grubu ve sağlıklı kontrol grubundan elde edilen bulgular sunulmuştur.

Her iki grup yaş ve cinsiyet dağılımına göre değerlendirildiğinde hasta grubunda yaş 38- 48 arası iken (ortalama yaş  $43,36 \pm 4,930$ ) kontrol grubunda ise 39- 54 arasında (ortalama yaş  $47,07 \pm 8,135$ ) bulunmuştur. Hasta grubu 60 erkek ve 26 kadın olmak üzere toplam 86 hastadan oluşurken kontrol grubunu 63 erkek, 25 kadın oluşturmaktaydı (Tablo 8).

**Tablo 8:** KAH olan olgu grubu ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı

	<b>Hasta Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>
Yaş	$43,36 \pm 4,930$	$47,07 \pm 8,135$
Cinsiyet (E/K)	60/26	63/25
Toplam	86	88

Hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082 A ve IL-10 -592C/A genotipi ile sigara, alkol, serum lipid düzeyleri gibi risk faktörleri açısından karşılaştırıldı (Tablo9-14).

**Tablo 9:** Hasta ve kontrol grubunun risk faktörleri açısından değerlendirilmesi

Risk Faktörleri	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p	$\chi^2$
	n	%	n	%		
Sigara İçmeyen	38	44,2	36	40,9	0,065	5,482
<1 Paket/Gün	43	50,0	37	42,0		
≥1 Paket/Gün	5	5,8	15	17		
Toplam	86	100	88	100		
Alkol İçmeyen	72	84,7	70	79,5	0,658	0,838
Sosyal İçici	12	14,1	17	19,3		
Fazla Tüketen	1	1,2	1	1,1		
Toplam	86	100	88	100		

Hasta ve kontrol grubu serum lipid düzeyleri açısından karşılaştırıldığında hasta grubunda ortalama trigliserid, kolesterol ve HDL düzeyleri anlamlı yüksek, LDL düzeyi açısından ise her iki grup arasında fark saptanmadı (Tablo 10).

**Tablo 10:** Hasta ve kontrol grubunun serum lipid düzeyleri açısından değerlendirilmesi

<b>Serum Lipid Seviyeleri (mg/dl)</b>	<b>Hasta Grubu n=86</b>	<b>Kontrol Grubu n=88</b>	<b>p</b>	<b>F</b>
TG	236,91 ± 241,928	149,98 ± 68,162	0,001	12,010
LDL	128,44 ± 50,909	126,77 ± 30,472	0,795	0,680
HDL	42,38 ± 9,395	48,11 ± 10,438	0,000	14,464
Kolesterol	209,21 ± 55,077	195,74 ± 37,840	0,051	3,550

IL-10 -1082AA genotipi olan hasta grubunda ortalama serum kolesterol, trigliserid ve HDL düzeyleri istatistiksel anlamlı yüksek, LDL düzeylerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Tablo 11).

**Tablo 11:** Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -1082 G/A genotipi ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması

<b>IL-10 -1082 G/A</b>			<b>Hasta grubu</b> (n= 86)	<b>Kontrol grubu</b> (n= 88)	<b>p</b>
<b>Kolesterol</b>	<b>GG</b>	Ort	212,76 ± 57,345	193,42 ± 32,988	0,051
		n	33	38	
	<b>GA</b>	Ort	211,86 ± 55,713	197,92 ± 42,681	
		n	43	38	
	<b>AA</b>	Ort	186,10 ± 42,414	196,17 ± 37,840	
		n	10	12	
<b>TG</b>	<b>GG</b>	Ort	211,52 ± 106,638	135,63 ± 52,395	0,001
		n	33	38	
	<b>GA</b>	Ort	247,14 ± 304,752	149,53 ± 85,629	
		n	43	38	
	<b>AA</b>	Ort	276,70 ± 241,928	152,75 ± 49,169	
		n	10	12	
<b>HDL</b>	<b>GG</b>	Ort	42,42 ± 8,265	49,26 ± 10,988	0,000

		n	33	38	
	<b>GA</b>	Ort	42,23 ± 10,429	48,74 ± 9,037	
		n	43	38	
	<b>AA</b>	Ort	42,90 ± 9,098	42,50 ± 11,859	
		n	10	12	
<b>LDL</b>	<b>GG</b>	Ort	129,91 ± 50,763	130,03 ± 29,573	0,795
		n	33	38	
	<b>GA</b>	Ort	130,34 ± 51,766	129,84 ± 29,147	
		n	43	38	
	<b>AA</b>	Ort	107,33 ± 49,399	122,00 ± 40,220	
		n	10	12	



IL-10 -1082 A alleli olan hasta grubunda ortalama serum kolesterol, trigliserid ve HDL düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, LDL düzeylerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12).

**Tablo 12:** Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -1082 G/A polimorfizmi allel sıklığı ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması

<b>IL-10 -1082G/A</b>			<b>Hasta grubu</b> (n= 86)	<b>Kontrol grubu</b> (n= 88)	<b>p</b>
<b>Kolesterol</b>	<b>G</b>	Ort	212,40 ± 56,178	194,92 ± 36,440	0,008
		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	203,68 ± 52,641	197,24 ± 40,5 89	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	209,21 ± 54,916	195,74 ± 37,702	
		n	172	176	
<b>TG</b>	<b>G</b>	Ort	225,57 ± 207,775	140,26 ± 65,130	0,000
		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	256,53 ± 290,999	150,81 ± 72,948	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	236,91 ± 241,220	143,98 ± 67,967	
		n	172	176	
<b>HDL</b>	<b>G</b>	Ort	42,35 ± 9,099	49,09 ± 10,289	0,000

		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	42,44 ± 9,899	46,32 ± 10,471	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	42,98 ± 9,367	48,11 ± 10,408	
		n	172	176	
<b>LDL</b>	<b>G</b>	Ort	1230,07 ± 50,667	126,75 ± 28,385	0,713
		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	125,13 ± 51,236	126,81 ± 33,370	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	128,44 ± 50,748	126,77 ± 30,385	
		n	172	176	

IL-10 -592C/A genotipi olan hasta grubunda ortalama serum kolesterol, trigliserid ve HDL düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı , LDL düzeylerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Tablo 13).

**Tablo 13:** Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A genotipi ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması

<b>IL-10 -592C/A</b>			<b>Hasta grubu</b> (n =86)	<b>Kontrol grubu</b> (n= 88)	<b>p</b>
<b>Kolesterol</b>	<b>CC</b>	Ort	206,20 ± 47,899	192,84 ± 38,540	0,045
		n	51	58	
	<b>CA</b>	Ort	211,29 ± 66,841	204,63 ± 36,275	
		n	29	24	
	<b>AA</b>	Ort	238,67 ± 44,974	188,17 ± 37,204	
		n	6	6	
<b>TG</b>	<b>CC</b>	Ort	213,67 ± 170,794	138,47 ± 53,203	0,001
		n	51	58	
	<b>CA</b>	Ort	279,54 ± 354,840	163,54 ± 96,997	
		n	29	24	
	<b>AA</b>	Ort	246,50 ± 81,894	119,00 ± 48,522	
		n	6	6	
<b>HDL</b>	<b>CC</b>	Ort	43,12 ± 9,655	48,26 ± 10,577	0,000

	n	51	58		
<b>CA</b>	Ort	41,32 ± 9,149	49,04 ± 9,720		
	n	29	24		
<b>AA</b>	Ort	43,50 ± 7,842	43,00 ± 12,247		
	n	6	6		
<b>LDL</b>	<b>CC</b>	Ort	126,04 ± 44,443	124,52 ± 30,952	0,702
		n	51	58	
	<b>CA</b>	Ort	128,56 ± 63,351	130,46 ± 28,823	
		n	29	24	
	<b>AA</b>	Ort	156,67 ± 22,669	133,83 ± 35,068	
		n	6	6	

IL-10 -592 A alleli olan hasta grubunda ortalama serum kolesterol, trigliserid ve HDL düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek, LDL düzeylerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14).

**Tablo 14:** Hasta ve kontrol grubunun IL-10 -592C/A polimorfizmi allel sıklığı ile serum lipid düzeylerinin karşılaştırılması

IL-10 -592C/A			Hasta grubu (n= 86)	Kontrol grubu (n =88)	p
Kolesterol	C	Ort	194,92 ± 36,440	194,86 ± 38,155	0,008
		n	114	109	
	A	Ort	203,68 ± 52,641	197,24 ± 40,589	
		n	63	62	
	Toplam	Ort	209,21 ± 54,916	195,74 ± 37,702	
		n	172	176	
TG	C	Ort	225,57 ± 207,775	140,26 ± 65,130	0,000
		n	109	114	
	A	Ort	256,53 ± 290,999	150,81 ± 72,948	
		n	63	62	
	Toplam	Ort	236,91 ± 241,220	143,98 ± 67,967	
		n	172	176	
HDL	C	Ort	42,35 ± 9,099	49,09 ± 10,289	0,000

		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	42,44 ± 9,899	46,32 ± 10,471	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	42,98 ± 9,367	48,11 ± 10,408	
		n	172	176	
<b>LDL</b>	<b>C</b>	Ort	123,07 ± 50,667	126,75 ± 28,385	0,713
		n	109	114	
	<b>A</b>	Ort	125,13 ± 51,236	126,81 ± 33,370	
		n	63	62	
	<b>Toplam</b>	Ort	128,44 ± 50,748	126,77 ± 30,385	
		n	172	176	

Koronar arter hastalığı olan tüm hastaların EKG'lerinde ST segment depresyonu, efor EKG'lerinde bozukluk saptandı. Ejeksiyon fraksiyonları 31(%36) hastada %70 ve üzerinde normal, 65 (%64) hastada düşüktü.

Hasta grubu tutulan damar sayısı açısından değerlendirildiğinde 39 (%45, 3) hastada tek damar, 28 (%32,7) hastada iki damar ve 19 (%22) hastada üç damar tutulumu saptandı (Tablo 15).

**Tablo 15:** Hasta grubunun anjiyografi bulguları

Anjiyografi Bulguları	Tek Damar		İki Damar		Üç Damar		Toplam
	n	%	n	%	n	%	
<b>Hasta Grubu</b>	39	45,3	28	32,7	19	22	86

Hasta grubu IL-10 -1082G/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -1082GG genotipi, tek ve iki damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 9,692, p: 0,008,  $\chi^2$ : 9,556, p: 0,008). Üç damar tutulumu açısından -1082GA ve -1082AA genotipleri arasında fark yoktu( $\chi^2$ : 3,100, p: 0,212 )(Tablo 16).

**Tablo 16:** Hasta grubunun IL-10 -1082G/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması

IL-10 -1082G/A	GG	GA	AA	p	$\chi^2$
<b>Tek damar</b>	16	19	4	0,008	9,692
<b>İki damar</b>	8	16	3	0,008	9,556
<b>Üç damar</b>	9	8	3	0,212	3,100
<b>Toplam</b>	33	43	10		
<b>p</b>	0,178	0,105	0,905		
<b><math>\chi^2</math></b>	3,455	4,512	0,200		

Hasta grubunda IL-10 -1082G/A allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -1082 A alleli, tek damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 7,385 p: 0,007). İki ve Üç damar tutulumu ve IL-10 -1082G/A allel sıklığı açısından hasta grubunda anlamlı bir fark saptanmadı ( $\chi^2$ : 3,600, p: 0,058,  $\chi^2$ : 1,852, p: 0,174 )(Tablo 17).

**Tablo 17:** Hasta grubunun IL-10 -1082G/A polimorfizmi allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması

<b>IL-10 -1082G/A</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>Toplam</b>	<b>p</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
<b>Tek damar</b>	51	27	78	0,007	7,385
<b>İki damar</b>	32	22	54	0,174	1,852
<b>Üç damar</b>	26	14	40	0,058	3,600
<b>Toplam</b>	109	63	172		
<b>p</b>	9,376	4,095			
<b><math>\chi^2</math></b>	0,09	0,129			



Hasta grubu IL-10 -592C/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -592CA genotipi, tek damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 24, 000, p: 0,000). İki damar ve üç damar tutulumu açısından -592CA ve -592AA genotipleri arasında fark yoktu ( $\chi^2$ : 0, 615, p: 0,433,  $\chi^2$ : 3, 100, p: 0,212)(Tablo 18).

**Tablo 18:** Hasta grubunun IL-10 -592C/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması

IL-10 -592C/A	CC	CA	AA	p	$\chi^2$
<b>Tek damar</b>	27	9	3	0,000	24,000
<b>İki damar</b>	15	11	0	0,433	0,615
<b>Üç damar</b>	9	8	3	0,212	3,100
<b>Toplam</b>	51	28	6		
<b>p</b>	9,882	0,779	1,000		
<b><math>\chi^2</math></b>	0,007	0,500	0,000		

Hasta grubu IL-10 -592C/A allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -592 A alleli, tek ve iki damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 29,538 p: 0,000,  $\chi^2$ : 17, 308, p: 0,000). Üç damar tutulumu ile IL-10 -592C/A allel sıklığı açısından hasta grubunda anlamlı bir fark saptanmadı( $\chi^2$ : 3,600 p: 0,058)(Tablo 19).

**Tablo 19:** Hasta grubunun IL-10 -592C/A polimorfizmi allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırılması

IL-10 -592C/A	C	A	Toplam	p	$\chi^2$
<b>Tek damar</b>	63	15	78	0,000	29,538
<b>İki damar</b>	41	13	54	0,000	17,308
<b>Üç damar</b>	26	14	40	0,058	3,600
<b>Toplam</b>	130	42	172		
<b>p</b>	0,000	0,723			
<b><math>\chi^2</math></b>	15,985	0,650			

Hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 18).

**Tablo 20:** Hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A polimorfizmi için genotip dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A	Hasta (n=86)		Kontrol (n=88)		Toplam	$\chi^2$	p
	n	%	n	%			
<b>GG</b>	33	38,3	38	43,1	71		
<b>G1082A</b>	44	51,1	38	43,1	82	0,705	0,575
<b>AA</b>	9	10,6	12	13,8	21		

Hasta ve kontrol grubu IL-10 -592C/A polimorfizmi için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,875) (Tablo 21).

**Tablo 21:** Hasta ve kontrol gruplarında C592A polimorfizmi için genotip dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A		Hasta (n=86)		Kontrol (n=88)		Toplam	$\chi^2$	p
		n	%	n	%			
C592A	CC	51	59,3	58	65,9	109	0,309	0,875
	CA	29	33,8	24	27,3	53		
	AA	6	6,9	6	6,8	12		

Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü olmak üzere ayrılarak yapılan IL-10 -1082G/A polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırılması istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,775, p:0,922) (Tablo 22).

**Tablo 22:** Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü için IL-10 -1082G/A polimorfizminin genotip dağılımı

≥ 45 YAŞ		Hasta		Kontrol		Toplam		$\chi^2$	P
		n	%	n	%	N	%		
IL-10 -1082G/A	GG	14	42,4	21	46,7	35	44,9	0,509	0,775
	GA	15	45,5	17	37,8	32	41		
	AA	4	12,1	7	15,6	11	14,1		
	Toplam	33	100	45	100	78	100		
< 45 YAŞ		Hasta		Kontrol		Toplam		$\chi^2$	P
		n	%	n	%	N	%		
IL-10 -1082G/A	GG	19	35,8	17	39,5	36	37,5	0,165	0,922
	GA	28	52,8	21	48,8	49	42		
	AA	6	11,3	5	11,6	11	11,5		
	Toplam	53	100	43	100	96	100		

Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü olmak üzere ayrılarak yapılan IL-10 -592C/A polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( p:0,168, p:0,809) (Tablo 23).

**Tablo 23:** Hasta ve kontrol gruplarında 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü için IL-10 -592C/A polimorfizminin genotip dağılımı

≥ 45 YAŞ		Hasta		Kontrol		Toplam		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	N	%		
IL-10 -592C/A	CC	20	62,5	25	55,6	45	58,4	3,578	0,168
	CA	11	31,3	16	35,6	27	33,8		
	AA	2	6,3	4	8,9	6	7,8		
	<b>Toplam</b>	33	100	45	100	78	100		
< 45 YAŞ		Hasta		Kontrol		Toplam		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	N	%		
IL-10 -592C/A	CC	31	58,5	33	76,7	64	66,7	0,424	0,809
	CA	18	34	8	18,6	26	27,1		
	AA	4	7,5	2	4,7	6	6,3		
	<b>Toplam</b>	53	100	43	100	96	100		

45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile genotipler arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -1082G/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,721, p:0,297) (Tablo 24).

**Tablo 24:** 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A		GG		GA		AA		Toplam	$\chi^2$	P	
		n	%	n	%	n	%				
≥ 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	6	50	5	41,7	1	8,3	12	0,653	0,721
		Erkek	15	45,5	12	36,5	6	18	33		
		Toplam	21	46,7	17	37,8	7	15,6	45		
	Hasta	Kadın	4	40	6	60	0	0	10	2,427	0,297
		Erkek	10	43,5	9	39,1	4	17,4	23		
		Toplam	14		15		4		33		

45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile genotipler arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -592C/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,110, p:0,092) (Tablo 25).

**Tablo 25:** 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A		CC		CA		AA		Toplam	$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%				
≥ 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	5	41,7	7	58,3	0	0	12	4,411	0,110
		Erkek	20	60,6	9	27,3	4	12,1	33		
		Toplam	25	55,6	16	35,6	4	8,9	45		
	Hasta	Kadın	5	50	3	30	2	20	10	4,771	0,092
		Erkek	15	65,2	7	30,4	1	4,4	23		
		Toplam	20	60,6	10	30,3	3	9,1	33		

45 yaş altı hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile genotipler arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -1082G/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,616, p:0,141) (Tablo 26).

**Tablo 26:** 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A		GG		GA		AA		Toplam	$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%				
45 YAŞ	Kontrol	Kadın	5	38,4	6	46,1	2	15,5	13	0,742	0,616
		Erkek	12	40	15	50	3	10	30		
		Toplam	17	39,5	21	48,8	5	11,7	43		
	Hasta	Kadın	6	37,5	8	50	2	12,5	16	3,442	0,141
		Erkek	13	35,1	19	51,3	5	13,6	37		
		Toplam	19	35,8	28	52,8	7	11,4	53		

45 yaş altı hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile genotipler arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -592C/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,789, p:0,605) (Tablo 27).

**Tablo 27:** 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A genotipleri dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A			CC		CA		AA		Toplam	$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%			
< 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	10	76,9	2	15,3	1	7,8	13	0,474	0,789
		Erkek	23	76,6	6	20	1	3,34	30		
		Toplam	33	76,7	8	18,6	2	4,7	43		
	Hasta	Kadın	11	68,8	4	25	1	6,2	16	1,006	0,605
		Erkek	20	54,1	14	37,8	3	8,1	37		
		Toplam	31	58,5	18	34	4	7,5	53		



45 yaş altı hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı

(p:0,836, p:0,287) (Tablo 28).

**Tablo 28:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		Hasta		Kontrol		Toplam	$\chi^2$	p
		n	%	n	%			
IL-10 -1082G/A	<b>G</b>	109	63,4	114	64,7	223	0,740	0,836
	<b>A</b>	63	36,6	62	35,3	125		
	<b>Toplam</b>	172	100	176	100	348		
IL-10 -592C/A	<b>C</b>	130	75,6	140	79,5	270	0,477	0,287
	<b>A</b>	42	24,4	36	20,5	78		
	<b>Toplam</b>	172	100	176	176	348		

45 yaş altı hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $\chi^2$ : 0,058, p:0,464 ve C592A) IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0,049) (Tablo29).

**Tablo 29:** 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
< 45 YAŞ	IL-10 -1082G/A	Kontrol	55	64	31	36	86	100	0,058	0,464
		Hasta	66	62,3	40	37,7	106	100		
		Toplam	121	63	71	37	192	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	74	86	12	14	86	100	3,345	0,049
		Hasta	80	75,5	26	24,5	106	100		
		Toplam	154	80,2	38	19,8	192	100		

45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,546, p:0,314) (Tablo 30).

**Tablo 30:** 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		C		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
≥ 45 YAŞ	IL-10 -1082G/A	Kontrol	59	65,6	31	34,4	90	100	0,003	0,546
		Hasta	43	65,2	23	34,8	66	100		
		Toplam	102		54		156			
	IL-10 -592C/A	Kontrol	66	73,3	24	26,7	90	100	0,462	0,314
		Hasta	50	78,1	16	21,9	66	100		
		Toplam	116	73,3	40	25,7	156	100		

Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımı arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -1082G/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,740, p:0,436) (Tablo 31).

**Tablo 31:** Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A		G		A		Toplam		$\chi^2$	P
		n	%	n	%	n	%		
Kontrol	Kadın	37	74	13	26	50	100	2,606	0,740
	Erkek	77	61,1	49	38,9	126	100		
	Toplam	114	64,7	62	35,3	176	100		
Hasta	Kadın	32	61,5	20	37,5	52	100	0,108	0,436
	Erkek	77	64,2	43	25,8	120	100		
	Toplam	109	63,4	63	36,6	172	100		

IL-10 -1082G/A polimorfizmi 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımları arasında karşılaştırma yapıldığında ilişki saptanmadı (p:0,355, p:0,400) (Tablo 32).

**Tablo 32:** 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A		G		A		Toplam		$\chi^2$	P	
		n	%	n	%	n	%			
≥45 YAŞ	Kontrol	Kadın	17	70,8	7	29,2	24	100	0,404	0,355
		Erkek	42	63,6	24	36,4	66	100		
		Toplam	59	65,5	31	34,5	90	100		
	Hasta	Kadın	14	70	6	30	20	100	0,297	0,400
		Erkek	39	63	17	37	46	100		
		Toplam	43	65,1	23	34,9	66	100		

IL-10 -1082G/A polimorfizmi 45 yaş altı hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımları arasında karşılaştırma yapıldığında ilişki saptanmadı (p:0,780, p:0,266) (Tablo 33).

**Tablo 33:** 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -1082G/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -1082G/A			G		A		Toplam		$\chi^2$	P
			n	%	n	%	n	%		
< 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	20	76,9	6	23,1	26	100	2,719	0,780
		Erkek	35	58,3	25	41,7	60	100		
		Toplam	55	63,9	31	36,1	86	100		
	Hasta	Kadın	18	56,3	14	43,7	32	100	0,706	0,266
		Erkek	48	64,9	26	35,1	74	100		
		Toplam	66	62,3	40	37,7	106	100		

Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımı arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -592C/A genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmadı (p:0,448, p:0,453) (Tablo 34).

**Tablo 34:** Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A			C		A		Toplam		$\chi^2$	P
			n	%	n	%	n	%		
Kontrol	Kadın	39	78	11	22	50	100	0,103	0,448	
	Erkek	101	80,2	25	19,8	126	100			
	Toplam	140	79,5	36	20,5	176	100			
Hasta	Kadın	39	72,2	15	27,8	54	100	0,090	0,453	
	Erkek	91	77,1	27	22,9	118	100			
	Toplam	109	63,4	63	36,6	172	100			

IL-10 -592C/A polimorfizmi 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımları arasında karşılaştırma yapıldığında ilişki saptanmadı (p:0,471, p:0,085) (Tablo 35).

**Tablo 35:** 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A			C		A		Toplam		$\chi^2$	P
			n	%	n	%	n	%		
≥ 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	17	70,8	7	29,2	24	100	0,105	0,471
		Erkek	49	74,2	17	25,8	66	100		
		Toplam	66	73,3	24	26,7	90	100		
	Hasta	Kadın	13	65	7	35	20	100	2,932	0,085
		Erkek	37	80,4	9	19,6	46	100		
		Toplam	50	75,7	16	24,3	66	100		

IL-10 -592C/A polimorfizmi 45 yaş altı hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile allel dağılımları arasında karşılaştırma yapıldığında ilişki saptanmadı (p:0,521, p:0,257) (Tablo 36).

**Tablo 36:** 45 yaş altı hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ile IL-10 -592C/A allel dağılımı ve değerlendirilmesi

IL-10 -592C/A			C		A		Toplam		$\chi^2$	P
			n	%	n	%	n	%		
< 45 YAŞ	Kontrol	Kadın	22	84,6	4	15,4	26	100	0,064	0,521
		Erkek	52	86,7	8	13,3	60	100		
		Toplam	74	86	12	14	86	100		
	Hasta	Kadın	26	81,2	6	18,8	32	100	0,827	0,257
		Erkek	54	64,9	20	35,1	74	100		
		Toplam	80	75,5	26	24,5	106	100		

Kadın hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı

(p:0,128, p:0,451) (Tablo 37).

**Tablo 37:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10			G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
			n	%	n	%	n	%			
KADIN	IL-10 -1082G/A	Kontrol	37	74	13	26	50	100	1,809	0,128	
		Hasta	32	61,5	20	38,5	52	100			
		Toplam	69	67,6	33	32,4	102	100			
				C		A		Toplam		$\chi^2$	p
				n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	39	78	11	22	50	100	0,128	0,451	
Hasta		39	75	13	25	52	100				
Toplam		78	76,5	24	23,5	102	100				

45 yaş ve üstü kadın hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,605, p:0,463) (Tablo 37).

**Tablo 37:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş ve üstü kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
≥ 45 YAŞ KADIN	IL-10 -1082G/A	Kontrol	17	70,8	7	29,2	24	100	0,004	0,605
		Hasta	14	70	6	30	20	100		
		Toplam	31	70,5	13	29,5	44	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	17	70,8	7	29,2	24	100	0,171	0,463
Hasta		13	65	7	35	20	100			
Toplam		30	68,1	14	31,9	44	100			



45 yaş altı kadın hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0,085, p:0,508) (Tablo 39).

**Tablo 39:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş altı kadın hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
< 45 YAŞ KADIN	IL-10 -1082G/A	Kontrol	20	76,9	6	23,1	26	100	2,714	0,085
		Hasta	18	56,3	14	43,7	32	100		
		Toplam	38	65,5	20	34,5	58	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	22	84,6	4	25,4	26	100	0,114	0,508
Hasta		29	81,3	6	18,7	32	100			
Toplam		48	82,7	10	17,3	58	100			

Erkek hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı

(p:0,128,p:0,451) (Tablo 40).

**Tablo 40:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
ERKEK	IL-10 -1082G/A	Kontrol	77	61,1	49	38,9	126	100	1,809	0,128
		Hasta	77	64,2	43	35,8	120	100		
		Toplam	154	62,6	92	37,4	246	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	101	80,2	25	19,8	126	100	0,128	0,451
Hasta		91	77,1	29	22,9	120	100			
Toplam		192	78,1	54	21,9	246	100			

45 yaş ve üstü erkek hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( p:0,605, p:0,161) (Tablo 41)

**Tablo 41:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş ve üstü erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	P	
		n	%	n	%	n	%			
≥ 45 YAŞ ERKEK	IL-10 -1082G/A	Kontrol	42	63,6	24	36,4	66	100	0,004	0,552
		Hasta	29	63	17	37	46	100		
		Toplam	71	63,4	41	36,6	112	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	P
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	49	74,2	17	25,8	66	100	1,501	0,161
Hasta		37	84,1	9	25,9	46	100			
Toplam		86	76,8	26	23,2	112	100			

45 yaş altı kadın hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında, IL-10 -1082G/A polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken (p:0,276) IL-10 -592C/A polimorfizmi A alleli için istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p:0,041) (Tablo 42).

**Tablo 42:** IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel sıklığının 45 yaş altı erkek hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

IL-10		G		A		Toplam		$\chi^2$	p	
		n	%	n	%	n	%			
< 45 YAŞ ERKEK	IL-10 -1082G/A	Kontrol	35	58,3	25	41,7	60	100	0,600	0,276
		Hasta	48	64,9	26	35,1	74	100		
		Toplam	83	61,9	51	38,1	134	100		
			C		A		Toplam		$\chi^2$	p
			n	%	n	%	n	%		
	IL-10 -592C/A	Kontrol	52	86,7	8	13,3	60	100	3,759	0,041
Hasta		54	73	20	27	74	100			
Toplam		106	79,1	28	20,9	134	100			

## **BİRLEŞİK GENOTİP ANALİZLERİ**

Hasta ve kontrol grubunda karşılaştırılmak üzere IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizi uygulandı. Analiz sonuçlarına göre IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir haplotip paterni ortaya konmamıştır (Tablo 43).

**Tablo 43:** Hasta ile kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi

<b>IL-10 1082/592</b>	<b>TOPLAM</b>				<b>OR</b>	<b>%95 CI</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>P</b>
	<b>HASTA</b>	<b>%</b>	<b>KONTROL</b>	<b>%</b>				
<b>GG/CC</b>	14	16	21	24	0,6204	0,292 - 1,3182	1,650	0,206
<b>GG/CA</b>	13	15	11	12,5	1,2466	0,5252 - 2,959	0,250	0,660
<b>GG/AA</b>	6	7	6	7	1,025	0,3172 - 3,3117	0,070	1,000
<b>GA/CC</b>	30	35	26	29,5	1,2775	0,6753 - 2,4166	0,570	0,510
<b>GA/CA</b>	13	15	12	13,6	1,1279	0,4831 - 2,6332	0,080	0,830
<b>AA/CC</b>	8	9	11	12,5	0,7179	0,2739 - 1,8818	0,460	0,620
<b>AA/CA</b>	2	3	1	0,9	2,0714	0,1843 - 23,2749	0,070	0,610

45 yaş altı hasta ve kontrol grubunda karşılaştırılmak üzere IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizi uygulandı. Analiz sonuçlarına göre IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir haplotip paterni ortaya konmamıştır (Tablo 44).

**Tablo 44:** 45 yaş altı hasta ile kontrol grubunda IL-10 G1082A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi

IL-10	< 45 YAŞ		$\chi^2$	p
	KONTROL	HASTA		
GG/CC	12	7	3,020	0,120
GG/CA	4	8	0,800	0,530
GG/AA	2	4	0,700	0,680
GA/CC	16	9	0,030	1,000
GA/CA	5	9	0,610	0,360
AA/CC	5	5	0,003	1,000
AA/CA	0	1	0,080	0,610

45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda karşılaştırılmak üzere IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizi uygulandı. Analiz sonuçlarına göre IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin birleşik haplotip analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir haplotip paterni ortaya konmamıştır (Tablo 45).

**Tablo 45:** 45 yaş ve üstü hasta ile kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri birleşik genotip değerlendirilmesi

IL-10	≥ 45 YAŞ		$\chi^2$	p
	KONTROL	HASTA		
GG/CC	9	7	0,020	1,000
GG/CA	8	5	0,090	1,000
GG/AA	4	2	0,020	0,690
GA/CC	10	11	1,190	0,300
GA/CA	7	4	0,020	0,760
AA/CC	6	3	0,030	0,720
AA/CA	1	1	0,020	1,000

## BÖLÜM IV

### TARTIŞMA

Kalp ve damar hastalıkları, günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde başta gelen mortalite (ölüm) ve morbidite (işgörmezlik) nedenlerindedir. XX. yüzyıl başlarında kalp ve damar hastalıkları dünya genelinde ölümlerin %10'undan daha azından sorumluyken, XXI. yüzyıl başında gelişmiş ülkelerde ölümlerin neredeyse yarısından, gelişmekte olan ülkelerde ise %25'inden sorumludur. 2000 yılında Akgün ve arkadaşlarının (1) yaptıkları “Ulusal Hastalık Yüğü” çalışmasında ölüme neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında, bunun %23'ünü, ulusal düzeyde sakatlığa ayarlanmış yaşam yılına neden olan ilk on hastalığın yüzde dağılımına bakıldığında ise bunun %8'ini iskemik kalp hastalıklarının oluşturduğu görülmektedir (1). Kişilere ve ülkelere getirdiği maddi yük nedeni ile erken dönemde tanı konması ve çeşitli risk faktörlerine karşı korunma yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Son yıllarda özellikle myokard infarktüsü, ani ölüm ve kalp yetmezliği gibi ciddi komplikasyonların erken tanı ve tedavisi için geniş çalışmalar yapıldığı bilinmektedir. Risk faktörlerinin belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması primer korunmada en önemli faktördür ve koruyucu yaklaşımlar için de hastalıkların temel özelliklerinin iyi bilinmesi şarttır.

Ateroskleroz torasik ve abdominal aorta, koroner arterler, karotisler, periferik, renal ve mezenterik arterleri tutabilen, genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşimi sonucu endotelyal hücreler, düz kas hücreleri, inflamatuvar hücreler ve trombositler arasındaki etkileşim ile oluşan inflamatuvar uyarıya, arteriel duvarın yanıtı olarak gözlenen kronik inflamatuvar hastalıktır. Bu etkileşimler sonucunda çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, reaktif oksijen radikalleri ve enzimler ortaya çıkmakta, bunlar da aterosklerotik plak gelişiminde rol oynadığı belirtilmektedir.



Koroner arter hastalıklarında moleküler genetik çalışmaların amacı; patofizyolojinin aydınlatılması, ana metabolik yolların ve yeni moleküler ve hız sınırlayıcı basamakların tanımlanması, erken koroner arter hastalığı için riskli olguların belirlenmesi, görüntüleme yöntemleri, kateterizasyon, koroner bypass cerrahi, pacemaker ve medikal tedaviler gibi pahalı tanı ve tedavi giderlerinin azaltılması, daha az invaziv olan yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesidir.

Sitokin genlerindeki polimorfizmlerin, sitokin ekspresyonunu etkileyebileceği veya hastalıklara genetik bir yatkınlık oluşturabileceğini gösteren çalışmaların sayısı oldukça fazladır. Son çalışmalarda aterosklerotik lezyon formasyonu patogenezinde, hem progresyon hem de komplikasyonların oluşumunda, inflamatuvar olayların önemli rolü olduğu gösterilmiştir. İnflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dinamik denge farklı mekanizmalarla düzenlenmektedir.

IL-10, T-helper 2 hücreler, B hücreler, monosit, makrofaj, keratinosit, mikroglia, doğal öldürücü, eosinofil ve dendritik hücreler tarafından salgılanan, temel fonksiyonu immünosupresyon ve antiinflamatuvar olan immüno-regülatör bir sitokindir. İnflamasyon aterosklerotik lezyonların başlangıcı ve gelişiminde major rol oynar. Pek çok çalışmada IL-1, IL-8, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler üzerinde durulmuştur, ancak ateroskleroz gelişimine antiinflamatuvar sitokinlerin etkisi konusunda bilinenler azdır (7, 43,44). Daha önce yapılan çalışmalarda myokardial iskemi ve kardiopulmoner bypass cerrahi sırasında IL-10 salınımının arttığı gösterilmiştir (50- 53). IL-10 aterosklerotik plaklarda erken ve ileri evrelerde eksprese edilmekte ve plak progresyonu, rüptür ve tromboz ile ilişkili pek çok sellüler olayı inhibe etmektedir (52). Aynı zamanda erken ve ileri evre aterosklerotik plakta IL-10 ekspresyonunun arttığı da çalışmalarda gösterilmiştir (53). IL-10'un hem ateroskleroz hem de akut komplikasyonlarında koruyucu yeri olduğu düşünülmesi nedeni ile myokard infarktüsü ile ilgili yapılan çalışmalarda yer almaya başlamıştır. İn vitro, IL-10

düşük dansiteli lipoprotein endotel interaksiyonunu inhibe eder, monosit adezyon, diferansiasyon ve proliferasyonunu baskılar (53). Makrofaj ve T hücreleri üzerindeki inhibitör etkileri ile lokal inflamatuvar reaksiyonu düzenler. IL-10 aynı zamanda metalloproteinaz üretimi, nükleer faktör kappa B aktivasyonu, doku faktörü ve siklooksijenaz-2 ekspresyonunu inhibe eder (54). Yapılan çalışmalarda, IL-10 transgenik farelerde uygulanan aterojenik diete karşı aterosklerotik plak gelişiminde IL-10'un koruyucu etkisi gösterilmiştir (54). Bunlara örnek olarak Mallat ve arkadaşlarının (55) yaptıkları çalışmada IL-10 eksikliği olan farelerde aterojenik dietle beslenme ardından vahşi tip farelere göre aterosklerotik lezyonlarda üç kat artış olduğu görülmüştür. Koroner arter hastalığı öyküsü olan insanlarda yapılan bir çalışmada ise kronik stabil anjina pektorisli olgular ve anstabil anjinalı olgular karşılaştırıldığında serum IL-10 seviyesinin anstabil anjinalı olgularda daha düşük olduğu gösterilmiştir (48).

Seyrek ve arkadaşları (56) hemodializ hastalarını karoid doppler ultrasonografi ile ateroskleroz açısından taradıktan sonra, aterosklerotik plak saptanan olgular ile saptanmayanları IL-10 seviyesi açısından karşılaştırdıklarında, ateroskleroz pozitif grupta serum IL-10 seviyesinin ateroskleroz negatif gruba göre anlamlı düşük bulmuşlardır.

IL-10 geni 1. kromozom 1q31 ve 1q32 bölgesi arasında yer almaktadır (57,58) Ekspresyon çalışmalarının yanında ekspresyon seviyelerini etkileyen faktörlerin başında gelen polimorfizm çalışmaları da eş zamanlı olarak hız kazanmıştır. Günümüze kadar pek çok yayında IL-10 geninde en sık rastlanılan promoter polimorfizmlerden -1082G/A, -819C/T ve IL-10 -592C/A'nın IL-10 ekspresyonunu etkilediği yolunda yayınlar mevcuttur. Bu çalışmaların aynı zamanda etnik farklılıklar taşıdıkları, polimorfizmlerin etkilerinin bile farklı ırklarda farklı olduğu gözlenmiştir.

Bu amaçla Türk toplumunda 86 KAH tanısı almış hastaların IL-10 polimorfizmlerinden IL-10 ekspresyonu üzerine farklı ırklarda farklı etkileri olduğu bilinen -1082G/A ve -592C/A

polimorfizmlerinin çalışılması ve hastalarda ayrıca klinik verilerle polimorfizmler arasında ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Ekspresyon çalışmalarından sonra IL-10'nun ekspresyon seviyelerini etkileyen polimorfizmlerin araştırılması gündeme gelmiştir. IL-10 geninin haritalanması ve gendeki ilk polimorfizmler sistematik tarama ile 2 grup tarafından ortaya konmuştur(48, 58). Turner ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları çalışma sonunucunda -1082G/A, -819C/T ve -592C/A promotor polimorfizmlerin bildirilmesinin yanında invitro koşullarda -1082G/A polimorfizminin IL-10 ekspresyonunda azalmaya yol açtığını saptanmışlardır(48). IL-10 geninin haritalanması ve ilk polimorfizmleri tarayan diğer grup olan Eskdale ve arkadaşları ise promotor bölgedeki -854 T/C ve -627 C/A polimorfizmlerinin tanımlanmasını yaparken bu polimorfizmlerin IL-10 ekspresyonuna olan etkisini gösterememişlerdir(58).

IL-10 geninde -1082, -819, ve -592 bölgelerinde  tek nükleotid polimorfizmleri ve -1000 ve -4000 pozisyonlarında iki CA tekrar polimorfizmleri, IL10.G ve IL10.R bildirilmiş ve bu polimorfizmler ile iskemik kalp hastalıkları, inflamatuvar barsak hastalıkları, sistemik lupus eritematosus, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkları ile ilişkileri araştırılmıştır (59- 67).

IL-10'un romatoid artrit (RA) de immun düzenleyici sitokin olarak önemli olmasından dolayı promoterdeki bu iki mikrosatellit polimorfizmin dağılımı bu hastalıkta da araştırılmıştır. İki farklı etnik popülasyonda RA'de IL-10R2 allelinin dağılımı kıyaslandığında Güney Afrikalı hastalarda IL-10R2 allel frekansının beyaz ırka göre yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Etnik gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında, hasta ve kontrollerde IL-10R2 veya IL-10R3 allel frekansı açısından fark gözlenmemiştir (60). Buna karşılık, Eskdale ve arkadaşlarının 1998 yılında yaptığı bir çalışmada ise IL-10R2 alleli RA'li hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (49).

Ayrıca IL-10G13 mikrosatellit alleli ile ailesinde psöriasis öyküsü bilinen psöriasis vulgarisli hastalarda gösterilen ilişki sonucunda, bu allelin hastalığa yatkınlığı belirleyebileceği bildirilmiştir (61).

İtalyan SLE popülasyonunda da IL-10G (140bp) allelinin hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiş ve diğer etnik gruplardaki hastalıkla IL-10 arasında gösterilen ilişki doğrulanmıştır (47).

IL-10 proksimal promoterdeki polimorfik noktaların(-1082G/A, -819C/T ve -592C/A) dağılımı juvenil idiopatik artritli (JİA) hastalarda araştırıldığında, ATA haplotipi GCC haplotipi ile kıyaslanmış ve düşük transkripsiyon aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. JİA'da ATA/ATA genotipinin LPS ile uyarı sonucu düşük IL-10 yapımından sorumlu olduğu bulunmuştur (62).

RA'de yapılmış diğer bir çalışmada ise IL-10 proksimal promoter (-1082, -819 ve -592) ve mikrosatellit (IL-10G/R) polimorfizmlerinin hastalığa katkısı araştırılmıştır. Proksimal TNP'ler ile IL-10G ve IL-10R mikrosatellitlerinin RA hastalarında dağılımı belirlenmiş ve yalnızca IL-10G12 allelinin hastalıkla ilişkisi tesbit edilmiştir (63).

Lard ve arkadaşları (64) da IL-10 distal promoterinde -2839 (A/G) noktasındaki polimorfizmi RA'li hastalarda çalışmış ve eklem hasarı, hastalığa yatkınlık veya antikor yapımı ile olan ilişkisini araştırmışlardır. Bu TNP, hastalığa yatkınlık sağlamazken, G taşıyıcılığının anlamlı şekilde yüksek immunglobulin G tipi romatoid faktör (IgG-RF) ve anti-citrullinated peptid (anti-CCP) otoantikor yapımı ile ilişkili olduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca IL-10'un eklem yıkımında önemli olan sinoviositlerin invazyonunu, dolayısıyla da hastalık şiddetini azalttığı belirlenmiştir (64).

Primer Sjögren sendromuna yatkınlıkta IL-10 promotor polimorfizmlerinden, -1082G/A, -819C/T ve -592C/A polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada GCC haplotipinin ve GCC/ATA genotip frekansının hastalarda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca erken

başlangıçlı hastalarda GCC taşıyıcılığı tespit edilmiş ve GCC taşıyıcılığının anlamlılığa ulaşmasa da, hastalığın sistemik bulgularını gösterenlerde daha fazla olduğu belirlenmiştir (65).

Gibson ve arkadaşları distal promoter TNP haplotiplerinin dağılımını, SLE hastaları ile yüksek veya düşük IL-10 yaptığı bilinen normal donörlerde kıyaslamıştır. Hastalardaki dağılımın düşük IL-10 yapan kişilere göre anlamlı şekilde farklılık taşıdığını tesbit etmişlerdir. Düşük IL-10 yapan bireylerde daha sık olarak distaldeki -3575 ve -2763 noktalarında A allelinin taşındığı görülmüştür. Ayrıca SLE'lilerde -2763 A allel frekansının ve AA genotip frekansının, yüksek IL-10 yapan normal donörlerdeki sonuçlar gibi anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur (47).

İnflamatuar barsak hastalığında yapılan bir çalışmada ise, daha önceki çalışmalarda IL-10'un yüksek yapımı ile ilişkisi gösterilmiş olan -1082 G allelinin frekansının anlamlı şekilde düşük olduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca düşük IL-10 yapımından sorumlu olan -1082 AA genotipinin de artmış olduğu gözlenmiştir (66).

Alzheimer Hastalığı'nda (AH) IL-10 promoter polimorfizmlerinin (-1082G/A, -819C/T ve -592C/A) hastalığa olası katkısı araştırılmıştır. IL-10 -1082 pozisyonunda A allelini taşıyanların yüzdesi AH'da anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu allelin taşınması ATA haplotipinin artışı da etkilemektedir. Bu allel ve haplotipin düşük düzeyde IL-10 yapımı ile olan ilişkisi AH için bir katkı ve mekanizması bilinmeyen genetik bir faktör olarak düşünülmüştür (67).

Serum lipid düzeylerinin yüksekliği ateroskleroz açısından eskiden beri bilinen bir risk faktörüdür ve yapılan çalışmalarda yüksek LDL-kolesterol düzeyi, yüksek trigliserid düzeyi ve düşük HDL-kolesterol düzeyinin aterojenik dislipidemi kriterlerini oluşturduğu ortaya konmuştur (10).

Bu çalışmada bizim popülasyonumuzda koroner arter hastalığında IL-10 -1082 ve -592 polimorfizmlerinin yeri ve risk faktörleri ile ilişkilerinin değerlendirilmesini de hedeflenmiştir.

Stec ve arkadaşlarının (68) yaptıkları çalışmanın amacı stabil ve anstabil anjina pektorisli hastalarda proinflamatuvar (TNF- $\alpha$  ve IL-2) ve antiinflamatuvar (IL-10) sitokin konsantrasyonları ve solubl TNF reseptörlerinin (sTNFR 1 ve 2) araştırılması olarak belirtilmiştir. 20 sağlıklı gönüllü ve 77 hasta çalışmaya alınmış, yaş, cinsiyet, BMI (vücut kitle indeksi), anjina öyküsü (yıl), total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, Trigliserid(TG), dinlenme ve egzersiz EKG, sol ventrikül kitle indeksi, EF, koroner anjiyografi (tek damar, çift damar, üç damar hastalığı), eşlik eden hastalık (hipertansiyon, periferik tıkanıcı arter hastalığı, diabet) araştırılmıştır. Olgu grubu stabil ve anstabil anjinalı olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Olgu ve kontrol grubunda yaş ve BMI benzer bulunmuştur. Olgu ve kontrol grubunda hipertansiyon, diabet gibi eşlik eden sistemik hastalıklar açısından fark saptanmamıştır. Stabil anjinalı olgularda anjinanın ortalama süresi (semptomların başlangıcından itibaren geçen süre) anlamlı olarak anstabil anjinalı olgulardan uzun, stabil anjinalı olgularda kontrol grubuna göre serum ortalama kolesterol, TG düzeyleri yüksek bulunmuş, stabil ve anstabil anjinalı olgular arasında LV kitle indeksi, EF, etkilenen koroner arter sayısı ve eşlik eden hastalık açısından fark saptanmadığı belirtilmiştir. Olgu grubunda kontrol grubuna göre TNF- $\alpha$  konsantrasyonu 2 kat yüksek bulunsada stabil ve anstabil anjinalı gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Stabil anjinalı grupta sTNFR-1 düzeyi, anstabil anjinalı grupta IL-2 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunup, göğüs ağrısından sonra 6 ve 24 saat içinde bakılan düzeyler anlamlı yüksek iken, 48 saat sonra bakılanlar kontrol grubu ile benzer bulunduğu belirtilmiştir. Ortalama IL-10 düzeyi stabil ve anstabil anjinalı olgu grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Sonuçta, koroner arter hastalığı olan olgularda serum TNF- $\alpha$  ve IL-10 düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Stabil anjinalı olgularda TNF- $\alpha$  artışı ile sTNFR-1 konsantrasyonu korele bulunmuş, uzamış aterosklerozda kompanseuar bir mekanizma olarak yorumlanmıştır.

Benzer şekilde Smith ve arkadaşlarının (69) anjiyografik olarak tanı konmuş 50 kronik stabil anjina ve 45 anstabil anjinalı olguda yaptıkları çalışmada, anstabil anjinalı grupta serum IL-10 düzeyinin anlamlı olarak daha düşük olduğunun görüldüğü, sonuçlarının aterosklerozda IL-10'un koruyucu rolünü desteklediklerini belirtmişlerdir.

Bu çalışma koroner arter hastalığı tanısı almış 86 hasta ve sağlıklı 88 olgudan oluşan kontrol grubunda yapılmıştır. Her iki grup yaş ve cinsiyet dağılımına göre değerlendirildiğinde hasta grubunda yaş 38- 48 arası (ortalama yaş  $43,36 \pm 4,930$ ), kontrol grubunda ise 39- 54 arası (ortalama yaş  $47,07 \pm 8,135$ ) olarak bulunmuştur. Hasta grubu 60 erkek ve 26 kadın olmak üzere toplam 86 hastadan oluşurken kontrol grubunu 63 erkek, 25 kadın oluşturmuştur (Tablo 8).

Her iki grup serum lipid düzeyleri açısından karşılaştırıldığında hasta grubunda ortalama trigliserid, kolesterol ve HDL düzeyleri anlamlı yüksek, LDL düzeyi açısından ise her iki grup arasında fark saptanmamıştır (Tablo 10).

Ejeksiyon fraksiyonları %36 hastada %70 ve üzerinde normal, %64 hastada düşük olarak saptanmıştır. Hasta grubu tutulan damar sayısı açısından değerlendirildiğinde %45, 3 hastada tek damar, %32,7 hastada iki damar, %22 üç damar tutulumu saptanmıştır (Tablo 15).

Heeschen ve arkadaşlarının (70) çalışmasında akut koroner sendromlu hastalarda CAPTURE (c7E3 Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina) (71) çalışmasının verileri kullanılarak serum IL-10 seviyesinin prognostik bilgi sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır. Anjiyografi ile tanısı doğrulanmış 1265 koroner arter hastalığı olan olgu grubu ile 547 olgudan oluşan kontrol grubunda IL-10, CRP ve Troponin T düzeylerine bakılmıştır. Hastalar 6 aylık süre içinde izlenmişlerdir. Serum IL-10 düzeyi ile troponin T konsantrasyonu ile korelasyon saptanmazken, CRP düzeyi ile istatistiksel anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p<0.001$ ).

Hastalar serum IL-10 seviyelerine göre <2.5 pg/ml, 2.5-3.5 pg/ml, 3.6-5.1 pg/ml ve >5.1 pg/ml olmak üzere dört gruba ayrılmış ve yüksek IL-10 seviyesine sahip olan olguların koroner arter hastalığı açısından daha düşük riskli olduğu, IL-10 için 3.5 pg/ml eşik değeri maksimum prediktif değer olarak saptandığı belirtilmiştir. Sonuç olarak, akut koroner sendromlu olgularda yüksek CRP değeri ile birlikte yükselmiş IL-10 düzeyinin daha iyi prognozla ilişkili olduğu düşünüldüğü, hastalığın seyrinde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar belirleyiciler arasındaki dengenin önemi vurgulanmıştır.

Pasqui ve arkadaşlarının (72) çalışmalarında akut koroner sendromda pro ve antiinflamatuvar sitokinlerin aralarındaki denge araştırılmıştır. Stabil anjina pektorisli hastalar ve sağlıklı gönüllülerden oluşan grupla karşılaştırıldığında, akut myokard infarktüsü ve anstabil anjina pektorisli grupta proinflamatuvar sitokinler olan IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  üretiminde anlamlı artış, antiinflamatuvar sitokin IL-10 üretiminde ise anlamlı azalma olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda IL-10 düzeyi çalışılmamıştır.

IL-10 geninde sitokin ekspresyonu ile ilişkili en sık bilinen polimorfizmler -1082G/A, -592C/A ve -819C/T polimorfizmleridir. Genin promoter bölgesinde -1082. pozisyonda meydana gelen G $\rightarrow$ A baz değişimi benzer uyarıya karşı yaklaşık %30 daha az IL-10 üretimi ile sonuçlanmaktadır (44, 48, 73). Benzer şekilde C $\rightarrow$ A ve C $\rightarrow$ T baz değişimleri de daha az olmakla birlikte azalmış sitokin üretimi ile ilişkilidir (48).

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri için genotip dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 20-22).

Koch ve arkadaşlarının (74) çalışmasında belirgin koroner stenozu olan ancak MI bulguları olmayan koroner arter hastaları (n=998), eski veya yeni MI öyküsü olan hastalar (n=793) ile kontrol grubunu oluşturan yaş ve cins olarak benzer özelliklere sahip 340 hastada IL-10 ve TNF- $\alpha$  gen polimorfizmleri bakılmıştır. Allel sıklıkları, genotip dağılımları ve IL-10 promoter



polimorfizmlerinden -1082G/A, -819C/T ve -592C/A polimorfizmleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark saptanmamıştır. Gene, TNF- $\alpha$  promoter polimorfizmlerinden -863C/A, -308G/A ve TNF- $\beta$  intron-1 252G/A polimorfizmi açısından iki grup arasında fark saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonucunda; IL-10 polimorfizmleri (-1082G/A, -819C/T, -592C/A) ve TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  gen polimorfizmleri ile koroner arter hastalığı veya myokard infarktüsü ile ilişki bulunmadığı belirtilmiştir.

Koch ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada koroner arterlerine stent uygulanan 1850 hasta çalışmaya alınmış, TNF- $\alpha$  geninde -863C/A ve -308G/A promotor polimorfizmi, lenfotoksin-alfa (LT- $\alpha$ ) geninde 252G/A intron 1 polimorfizmi, IL-10 geninde -1082G/A, -819C/T, -592C/A polimorfizmleri çalışılmıştır. Yaş, cinsiyet, hipertansiyon, diyabet, sigara içme, hiperkolesterolemi, akut myokard infarktüsü, anstabil anjina, eski myokard infarktüsü, eski koroner arter by-pass cerrahi, azalmış sol ventrikül fonksiyonu, hasta damar sayısı (bir damar, 2 damar, 3 damar) araştırılmıştır. 6 ay içinde 1556 hastaya (%84,1) izlem anjiyografi uygulanmıştır. TNF- $\alpha$  -863 C/A olgularında eski koroner arter bypass cerrahi sıklığı daha fazla, LT- $\alpha$ -252GA genotipinde sigara içiciliği daha az, LT- $\alpha$  -252AA genotipinde hiperkolesterolemi daha az, IL-10 -1082 AA olgularında anstabil anjina pectoris ve eski myokard infarktüsü daha sık olarak saptandığı, polimorfizmler ile restenoz, ölüm veya myokard infarktüsü arasında ilişki bulunmadığı belirtilmiştir (75).

McGlinchey ve arkadaşları (76) koroner arter aterosklerozunun iskemik kalp hastalığının temelini oluşturduğu, aterosklerozun inflamatuvar bir süreç olduğu, bu süreçte sitokin ve adezyon moleküllerinin önemli rol oynadığı, proinflamatuvar mediatörler aterosklerozu tetiklerken, antiinflamatuvar mekanizmalarla olayın kontrol altında tutulduğu bilgisi göz önüne alınarak yaptıklarını belirttikleri çalışmalarında ateroskleroz gelişiminde rolü olduğu düşünülen üç sitokini kodlayan genlerde yer alan polimorfizmleri çalışmışlardır. IL-6 ateroskleroz gelişiminde yeri olduğu düşünülen bir proinflamatuvar sitokin, IL-10 ve TGF-

$\beta_1$  potansiyel olarak aterosklerotik plak gelişimini sınırlayan antiinflamatuvar sitokinlerdir (15). Bu üç sitokinin promoter bölgesinde yer alan IL-6 -174G/C, IL-10 -1082G/A ve TGF-  $\beta_1$  -509C/T polimorfizmleri 386 aileden 1012 olguda çalışılmıştır. Sonuçta, İrlanda populasyonunda çalışılan üç polimorfizmin iskemik kalp hastalığı ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olmadığı görüldüğü belirtilmiştir.

IL-10 -1082, -819, ve -592 bölgelerinde üç tek nükleotid polimorfizmleri ve -1000 ve -4000 pozisyonlarında iki CA tekrar polimorfizmleri, IL10.G ve IL10.R ve son olarak da, -3533, -2769, -2739, -2013, -1349, -1255, -851 ve -657 pozisyonlarında sekiz yeni polimorfizm bildirilmiştir (77, 78). Donger ve arkadaşları (79) çalışmalarında IL-10 geninde yeni polimorfizmlerin varlığını tanımlamayı hedefleyerek akut myokard infarktüsü öyküsü olan 1107 hasta ve 1082 kontrol olgusunda çalışmalarını yapmışlardır. IL-10 geninde 4 yeni polimorfizm tanımlamışlardır. Birincisi, ekzon 1'de pozisyon 78' de G→A transisyonu (IL10/G+78/ex1A), varsayılan sinyal peptidin 15. pozisyonunda glisinin arjinine değişimi, ikincisi, intron 3' te pozisyon +19' da C → T transisyonu (IL10/C+19/in3T), üçüncüsü, intron 3 pozisyon +953' te C → T transisyonu (IL10/T+953/in3C) ve dördüncü, 3' flanking bölgesinde C → T transisyonu, stop kodondan sonra pozisyon +117' de ( IL10/C+117T) olarak tanımlanmıştır. Bu yeni dört polimorfizm ve daha önceden Turner ve arkadaşları (7) tarafından tanımlanmış olan -1082, -819, -592 promoter bölgelerindeki polimorfizmler çalışılmıştır. Olgu ve kontrol grubunda herhangi bir polimorfizm açısından genotip veya allel sıklığında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuçta bizim çalışmamızda da olduğu gibi IL-10 polimorfizmlerinin myokard infarktüsü açısından artmış risk oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada renal transplant hastalarında, kardiovasküler patolojilerin önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olması göz önüne alınarak kardiovasküler risk açısından sitokin polimorfizmlerinin etkileri araştırılmıştır. 43 erkek, 29 kadın 72 renal

transplant hastasında TNF- $\alpha$  geninde gene -308 G/A, -238G/A, IL-10 geninde -1082A/G, -819T/C, -592A/C, transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1) geninde kodon 10 T/C, kodon 25 G/C polimorfizmleri, karotis intima kalınlığı, sol ventrikül kitle indexi, 24 saatlik kan basıncı monitorizasyonu, serum lipoprotein ve homosistein düzeyi, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), serum C-reaktif protein ve fibrinojen düzeyleri çalışılmıştır. Sol ventrikül kitle indexi, TNF- $\alpha$ , IL-10 ve TGF- $\beta$ 1 genotiplerinde benzer, sağ ve sol karotis intima media kalınlığı TGF- $\beta$ 1 kodon 10 polimorfizmi TT genotipli olgularda CT genotipli olgulardan yüksek saptanmıştır. Lipoprotein (a) düzeyi TGF- $\beta$ 1 kodon 10 polimorfizmi TT genotipli olgularda CC genotipli ve CT genotiplere göre yüksek bulunmuştur. Sitokin IL-10 -1082 GG yüksek üreten ve düşük TGF- $\beta$ 1 kodon 25 GC üretenler daha az karotis intima media kalınlığına sahipken ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. 24 saatlik kan basıncı monitorizasyonu, serum lipoproteinleri, plasma homosistein düzeyi, ESR, serum CRP, fibrinojen düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. TGF- $\beta$ 1 polimorfizmlerinin renal transplant hastalarında aterosklerozun erken evrelerinde bile önemli rol oynayabileceği düşünüldüğü belirtilmiştir (80).

Aterojenik dietle beslenen IL-10 eksikliği olan farelerde ateroskleroz riski belirgin artmıştır. Lezyonlarda T hücre infiltrasyonu, interferon gama ekspresyonu ve artmış kollagen birikimi görülür. Tersine, IL-10 aşırı eksprese eden farelerde daha az intimal lezyon geliştiği bilinmektedir (35). IL-10 tedavisi ile deneysel modelde lezyon boyutlarında %60 azalma olduğu görülmüştür (55). IL-10 aynı zamanda okside lipidlerin insan endotel hücreleri üzerine stimülatör etkilerini inhibe eder, zararlı etkileri olduğu bilinen mononükleer hücrelerden sentezlenen metalloproteinaz-1 gibi enzimlerin salınımını bloke eder(81). Densem ve arkadaşları koroner vaskülopatinin kardiyak transplantasyon sonrası önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olması ve IL-10 promoter bölgesinde -1082, -819 ve -592 polimorfizmleri varlığının azalmış IL-10 üretimi ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiş

olması nedeni ile kardiyak transplantasyon uygulanmış 148 hasta ve 134 donörde IL-10 -1082, -819 ve -592 polimorfizmlerini çalışmışlardır(82). Sonuç olarak IL-10 promotör polimorfizmlerinin koroner vaskülopati gelişimini öngörmeye genetik risk faktörü olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır, ancak çalışmalarında hasta sayılarının yetersiz olduğu ve hastaların transplantasyon sonrası glukokortikoidler gibi Th1 yanıtı Th2 ye kaydırarak Th2 dominansı sağlayan ve IL-10 üretimini arttıran immünosupresif tedavi almalarının çalışmanın sonuçlarını etkileyebileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir.

Monraats ve arkadaşları(83) perkutan koroner girişim sonrası restenoz gelişiminde inflamasyon kadar genetik faktörlerin de etkili olduğu hipotezleri ile başarılı perkutan koroner girişim uygulanmış 3104 hasta ve bu hastalardan izlemde vasküler rekanalizasyon gerektiren 304 hastada IL-10 geninde -2849G/A, -1082G/A, -592C/A ve + 4259A/G polimorfizmlerini araştırmışlar ve sonuçta antiinflamatuvar sitokin IL-10 geninde -2849AA,-1082AA ve +4259GG genotiplerinin restenoz gelişiminde önemli risk faktörü olarak saptadıklarını ve bu çalışmanın sonucunun antiinflamatuvar ilaç içeren stent geliştirilmesi için ipucu olabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda IL-10 -1082AA genotipi, -1082 A alleli, IL-10 -592C/A genotipi ve -592 A alleli olan hasta grubunda ortalama serum kolesterol, trigliserid ve HDL düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek, LDL düzeylerinde ise istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (11-13).

IL-10 genotipleri ile koroner arter hastalığı açısından bilinen risk faktörleri arasındaki ilişkiyi belirten sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Donger ve arkadaşlarının (79) çalışmasında vücut kitle indeksi, kan basıncı, serum lipid ve fibrinojen düzeyleri gibi iyi bilinen risk faktörlerinin hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması belirtilmeden, bu risk faktörleri ile IL-10 genotipleri arasında anlamlı ilişki saptanmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda hasta grubu IL-10 -1082G/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -1082GG genotipi, tek ve iki damar tutulumu olanlarda anlamlı saptanmış olup ( $\chi^2$ : 9,692, p: 0,008,  $\chi^2$ : 9,556, p: 0,008), üç damar tutulumu açısından -1082GA ve -1082AA genotipleri arasında fark saptanmamıştır ( $\chi^2$ : 3,100, p: 0,212) (Tablo 16).

Hasta grubunda IL-10 -1082G/A allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -1082 A alleli, tek damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 7,385 p: 0,007). İki ve Üç damar tutulumu ve IL-10 -1082G/A allel sıklığı açısından hasta grubunda anlamlı bir fark saptanmadı ( $\chi^2$ : 3,600, p: 0,058,  $\chi^2$ : 1,852, p: 0,174) (Tablo 17).

Hasta grubu IL-10 -592C/A genotipi ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -592CA genotipi, tek damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 24,000, p: 0,000). İki damar ve üç damar tutulumu açısından -592CA ve -592AA genotipleri arasında fark yoktu ( $\chi^2$ : 0,615, p: 0,433,  $\chi^2$ : 3,100, p: 0,212) (Tablo 18).

Hasta grubu IL-10 -592C/A allel sıklığı ile tutulan damar sayısı açısından karşılaştırıldığında -592 A alleli, tek ve iki damar tutulumu olanlarda anlamlı saptandı ( $\chi^2$ : 29,538 p: 0,000,  $\chi^2$ : 17,308, p: 0,000). Üç damar tutulumu ile IL-10 -592C/A allel sıklığı açısından hasta grubunda anlamlı bir fark saptanmadı ( $\chi^2$ : 3,600 p: 0,058) (Tablo 19).

Francis ve arkadaşlarının (84) 674 hasta, 827 sağlıklı kontrol olgusunda yaptıkları çalışmalarında, 155 tek damar, 519 çift damar, proinflatuar sitokin IL-1A (-889), IL-1B (-511), IL-1B (+3953) ve antiinflatuar sitokin IL-1RN intron 2 VTNR polimorfizmleri ile damar tutulumları karşılaştırılmıştır. Sonuçta sadece IL-1RN intron 2'deki VNTR polimorfizmi ile tek damar tutulumu anlamlı bulunurken, diğer polimorfizmler ile ilişki saptanmadığı belirtilmiştir.

Allen ve arkadaşlarının (85) çalışmasında 58 tek, 122 çok damar tutulumu olan hasta ve 79 sağlıklı kontrol olgusunda proinflatuar sitokin olan TNF- $\alpha$  geni promoter bölgesindeki -

238 ve -308 gen polimorfizmleri açısından damar tutulumları ve koroner arter hastalığı anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir.

Çevresel faktörlerin etkisinin yaş ilerledikçe arttığı bilgisi göz önünde bulundurularak ve genetik yatkınlığın daha iyi gösterilebileceği düşüncesi ile çalışmamızda hasta ve kontrol grubu 45 yaş altı ve 45 yaş ve üstü olmak üzere yaş gruplarına ayrılarak çalışılmıştır. Her iki grup arasında IL-10 -1082G/A polimorfizmi ve IL-10 -592C/A polimorfizmi genotip dağılımı karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 22,23). Literatürde IL-10 polimorfizmlerinin yaşa göre gruplandırılarak genotip ve allel dağılımının karşılaştırıldığı sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Lio ve arkadaşları (86) IL-10 genotipinin kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu bir genetik temelin bir komponenti olup olmadığını değerlendirmek için, İtalya'nın güney ve kuzeyinde myokard infarktüsülü iki erkek kohortu ve yaşça eşleştirilmiş kontrol grubu çalışmışlardır. -1082 GG homozigot en fazla yaşlı grupta, -1082 AA en fazla akut myokard infarktüsülü grupta saptanmıştır.

Iacoviello ve arkadaşlarının (87) koroner arter hastalığı ve proinflamatuvar sitokin IL-1 $\beta$  geninde promoter bölgedeki -511C/T ve +3953C/T polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmalarında 406 hasta, 419 kontrolden oluşan çalışma grubunu erkekler 45 yaş altı ve üstü, bayanlar 50 yaş altı ve üstü olmak üzere gruplandırmışlardır. -511C/T polimorfizmi yaş gruplandırması yapılmadan hasta ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında anlamlı bulunmazken, genç yaş grubunda anlamlı olduğu belirtilmiştir. Tüm yaş gruplarında +3953C/T polimorfizminin ise koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturmadığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda 45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ile genotipler arasında karşılaştırma yapıldığında IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A genotipleri genotipleri ile cinsiyet arasında ilişki saptanmamıştır (Tablo 24, 25). 45 yaş altı hasta ve kontrol grubu IL-10

-1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır(24, 25).

45 yaş altı hasta ve kontrol grubu IL-10 -1082G/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken ( $\chi^2$ : 0,058, p:0,464 ) IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur( $\chi^2$ : 3,345, p: 0,049)(Tablo 28, 29).

45 yaş ve üstü hasta ve kontrol grubunda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri allel dağılımı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır(Tablo 30).

Sonuç olarak çalışmamızda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin genel olarak bizim popülasyonumuzda koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturmazken cinsiyet ve yaş olarak gruplandırılarak bakıldığında 45 yaş altı erkeklerde IL-10 -592 C/A polimorfizminin koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturduğu görülmüştür. İnflamatuar reaksiyonlar, aterosklerotik plak formasyonu ve klinik prezentasyon arası ilişkiler, temelde altta yatan dinamik sitokin regülasyonu gibi kompleks bir olaydır. Daha geniş hasta gruplarında yapılan çalışmalar ile IL-10 polimorfizmlerinin önemi desteklenir ise risk grubundaki kişilerde IL-10 düzeyinin arttırılmasına yönelik yeni çalışma ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yol gösterici olacağına inanmaktayız.

## BÖLÜM V

### SONUÇLAR

Sonuç olarak çalışmamızda, yüksek serum kolesterol, trigliserid ve düşük HDL düzeyleri ile KAH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir

IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri için risk alleli taşıyanlarda serum kolesterol, trigliserid düzeyleri yüksek olduğunda, HDL düzeyi düşük olduğunda KAH riski yükseldiği gösterilmiştir.

Tek damar tutulumu olanlarda IL-10 -592C/A polimorfizmi CC genotip sıklığı kontrol grubuna yakın iken 3 damar tutulumunda anlamlı olarak azalırken, risk genotipi olan AA'nın ise arttığı gösterilmiştir

IL-10 -592C/A polimorfizmi için hastalarda tutulan damar sayısı arttıkça risk alleli sıklığının anlamlı olarak arttığı saptanmıştır.

IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmlerinin tüm populasyonumuzda koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturmazken cinsiyet ve yaş olarak gruplandırılarak bakıldığında 45 yaş altı erkeklerde IL-10 -592 C/A polimorfizminin koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturduğu görülmüştür. İnflamatuar reaksiyonlar, aterosklerotik plak formasyonu ve klinik prezentasyon arası ilişkiler, temelde altta yatan dinamik sitokin regülasyonu gibi kompleks bir olaydır. Daha geniş hasta gruplarında yapılan çalışmalar ile IL-10 polimorfizmlerinin önemi desteklenir ise risk grubundaki kişilerde IL-10 düzeyinin arttırılmasına yönelik yeni çalışma ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yol gösterici olacağına inanmaktayız.



## BÖLÜM VI

### ÖZET

Ateroskleroz çeşitli kardiovasküler komplikasyonlara neden olan kronik bir hastalıktır. Aterosklerozun başlangıç ve progresyonu esas olarak genetik faktörler ve yaşam tarzına bağlı olmakla beraber, altta yatan hücrel ve moleküler mekanizmalar hala net değildir. Son çalışmalarda dolaşımda yer alan sitokinlerin inflamatuvar olaylarda önemli rolü olduğu gösterilmiştir.

İnterlökin-10 (IL-10) inflamasyon regülasyonunda önemli rolü olan 36 kDa ağırlığında antiinflamatuvar sitokindir. IL-10 geni 1. kromozomun q31-32 bölgesinde lokalize ve yüksek bir polimorfizme sahiptir. IL-10 promoter bölgesinde -1082 (G →A substitisyonu), -819 (C → T substitisyonu), and -592 (C → A substitisyonu) IL-10 üretimini etkilemektedir. Allel taşıyıcılığı koroner arter hastalığı (KAH) riskini arttırabilmektedir.

Bu çalışmanın amacı IL-10 -1082G/A ve -592C/A polimorfizmleri ile KAH arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. IL-10 genine ait -1082 / - 592 pozisyonundaki iki adet tek nükleotid polimorfizmini PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Lenght Polymorphism) yöntemi kullanılarak çalışılmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda IL-10 -1082G/A ve IL-10 -592C/A polimorfizmleri tüm popülasyonumuzda koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturmazken cinsiyet ve yaş olarak gruplandırılarak bakıldığında 45 yaş altı erkeklerde IL-10 -592 C/A polimorfizminin koroner arter hastalığı açısından anlamlı risk oluşturduğu görülmüştür.

## ABSTRACT

Atherosclerosis is a chronic disease that causes various cardiovascular complications. Although the initiation and progression of atherosclerosis largely depend on genetic factors and life styles, the cellular and molecular mechanisms are still not clear. Recent studies have demonstrated that the inflammatory process plays an essential role in the pathogenesis of atherosclerotic lesion formation, both in its progression and and its complications. There is much evidence to suggest that inflammatory markers in the circulation, such as cytokines, may effect inflammatory process.

Interleukin- 10 (IL-10), a 36 kDa homodimeric antiinflammatory cytokine that has a critical role on regulation of inflammation. The IL-10 gene has been mapped on chromosome 1 q31–32. Three single base pair substitutions at positions -1082 (G to A substitution), -819 (C to T substitution), and -592 (C to A substitution) in the IL-10 promoter region influence IL-10 production. Carriage of low producing allele may increase susceptibility to coronary artery disease (CAD).

The aim of the study was to assess whether these IL-10 -1082G/A and -592C/A polymorphisms are related to the risk of CAD. Genotyping was performed with techniques based on PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Lenght Polymorphism).

No association was found between IL-10 -1082G/A and -592C/A polymorphisms and CAD in all groups. According to sex and age groups, it was found that IL-10 -592C/A polymorphism was associated with an increased risk of CAD in men younger than 45 years old.

## BÖLÜM VII

### KAYNAKLAR

1. Akgün S. Ulusal Hastalık Yüğü Sonuçları, Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Merkezi ve Başkent Üniversitesi işbirliği. 2000, Türkiye.
2. Koylan N. Koroner kalp hastalığı epidemiyolojisi, lipid dşrc ila ile ilgili büyük klinik alışmalar. Tr. Klin. Kardiol. Der. 2000;13: 9-20.
3. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New Engl J Med* 1999; 340:115–26.
4. Badimon L, Badimon JJ, Vilahur G. Pathogenesis of the acute coronary syndromes and therapeutic implications. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2002; 32: 225-231.
5. Kaeng W, Gregory YH. Acute coronary syndromes: Virchow’s triad revisited. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2003, 14: 605–625.
6. Goran K. Hansson, Anna-Karin L. Robertson, Cecilia Soderberg-Naucler. Inflammation and Atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2006. 1:297–329
7. Borish L, Steinke JW. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 460-75.
8. Fickenscher H, Hor S, Kupers H, Knappe A, Sticht H. The IL-10 family of cytokines. *Trends Immunol*, 2002; 23: 89-96.
9. Andreoli TE, Carpenter CC, Plum F, Smith LH. Koroner Kalp Hastalıkları. *Cecil Essentials of Medicine*. 2<sup>nd</sup> Edition. WB Saunders Company, 1990, p:89-90.
10. Hansson G, Nilsson J. Pathogenesis of atherosclerosis. In: Crawford MH, DiMarco JP, Paulus WJ, editors. *Cardiology* 1st ed. USA. Elsevier Science Limited;2001. p. 1.1. 1-12.
11. Goran K. Hansson, Anna-Karin L. Robertson, Cecilia Soderberg-Naucler. Inflammation and Atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2006. 1:297–329.
12. Lidker PM. High-sensitivity C-reactive protein: postential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103:1813-8.
13. Falk E, Fuster V. Atherogenesis and its Determinants. In: Fuster V, Alexander RW, O’Rourke RA, editors. *Hurst’s The Heart*. 10th ed. USA. International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001. Ch35, p. 1065-1093.
14. Hansson G, Nilsson J. Pathogenesis of atherosclerosis. In: Crawford MH, DiMarco JP, Paulus WJ, editors. *Cardiology* 1st ed. USA. Elsevier Science Limited;2001. p. 1.1. 1-12.

15. Davies MJ. Pathology of Coronary Atherosclerosis. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, editors. *Hurst's The Heart*. 10th ed. USA. International Edition McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001. Ch36, p. 1095-1105.
16. Stary HC, Chandler A, Dinsmore R. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular lesions of the Council of Arteriosclerosis. American Heart Association. 1995;92:1355- 13.
17. Kardiyoloji Miniatlas. 1. Baskı. AND Danışmanlık, Eğitim, yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 2003. p. 155-162.
18. Virchow R. Phlogose and thrombose in gerasystem. In: Virchow R (editor): *Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicin*. Frankfurt: Von Meidinger Sohn; 1856, pp. 458–636.
19. Rokitsansky C. A manual of pathological anatomy. Blanchard and Lea, 1855, Philadelphia.
20. Ross R, Glomset JA, Kariya B, Harker LA. A platelet dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:1753- 56.
21. Brown MS, Goldstein JL. A receptor mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34- 47.
22. Breslow JL. Mouse models of atherosclerosis. *Science* 1996; 89: 4471- 73.
23. Nordestgaard BG. The vascular endothelial barrier-selective retention of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7: 269- 73.
24. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997;272: 20963- 6.
25. Navab M, Berliner JA, Watson AD. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. *Arteriosclerosis Thrombosis Vasc Biol* 1996: 16; 831- 43.
26. Cybulsky MI, Gimbrone MA. Endotelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherosclerosis. *Science* 1991; 251: 788- 91.
27. Wick G, et al. The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall. *Molec Med Today* 1996;15:372-9.
28. Goran K, Robertson AK, Shoderberg-Naucher C. Inflammation and atherosclerosis. *Ann Rev Pathol Mech Dis* 2006.1:297-329
29. Hansson GK. Cell-mediated immunity in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 301- 11.

30. Stemme S, Faber B, Holm J, Hansson GK: T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized LDL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92: 3893-97.
31. Frostergard J, Ulfgren AK, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of proinflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis* 1997;145: 33-43.
32. Whitman SC, Ravisankar P, Elam H, Daugherty A. 2000. Exogenous interferon- $\gamma$  enhances atherosclerosis in apolipoprotein E $^{-/-}$  mice. *Am. J. Pathol.* 157:1819–24
33. Mehta JL, Saldeen TGP, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1998;31: 1217–25.
34. van der Poll T, Jansen J, Levi M, ten Cate H, ten Cate JW, van Deventer SJH. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med* 1994;180:1985–8.
35. Pinderski Oslund LJ, Hedrick CC, Olvera T, Hagenbaugh A, Territo M, Berliner JA, Fyfe AI. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2847–53.
36. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pober J. S. (2005). Cytokines. In: *Cellular and Molecular Immunology*, Fifth Edition, Elsevier Saunders pub., p:243- 275.
37. Hajeer AH, Hutchinson IV. TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Tech*, 2000; 50: 216- 28.
38. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*. 2001, 6<sup>th</sup> Edition, Chapter 12, p 221- 222.
39. Lazarus R, Klimecki WT, Palmer LY, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the interleukin-10 gene: differences in frequencies, linkage disequilibrium patterns and haplotypes in three United States ethnic groups. *Genomics*, 2002;80: 223-228.
40. Volk HD, Asadullah K, Gallage G, Sabat R, Grütz G. IL-10 and its homologs: Important immune mediators and emerging immunotherapeutic agents. *Trends Immunol*, 2001; 22: 414- 417.
41. Tedgui A, Mallat Z. Interleukin-10: anti-atherogenic cytokine. *J Clin Invest*, 2001; 31:1-2.
42. Fickenscher H, Hor S, Kupers H, Knappe A, Sticht H. The IL-10 family of cytokines. *Trends Immunol*, 2002; 23: 89- 96.
43. Moore KW, Malefyt RW, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 ve the Interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 2001; 19: 683- 765.

44. Mocellin S, Panelli MC, Wang E, Nagorsen D, Marincola FM. The dual role of IL-10. *Trends Immunol*, 2003; 24: 36-43.
45. Andrew DP, Chang MS, McNinch J. CC Chemokine Acts Specifically on Chronically Activated Th2 Lymphocytes and is Produced by monocytes on Stimulation with Th2 Cytokines IL-4 and IL-13. *J Immunol*, 1998; 161: 5027-5038.
46. Donger C, Georges JL, Nicaud V. New Polymorphisms in the Interleukin-10 gene-relationships to Myocardial Infarction. *J Clin Invest*, 2001; 31: 9- 14.
47. Gibson AW, Edberg JC, Wu J, Westendorp RGJ. Novel Single Nucleotid Polymorphisms In the Distal IL-10 Promoter Affect IL-10 Production and Enchance the Risk of Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol*, 2001; 166:3915-3922.
48. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M. An Investigation of Polymorphism in The Interleukin-10 Gene Promoter. *Euro J Immunogen*, 1997; 24: 1-8.
49. Eskdale J, Gallagher G, Vermeij CL. Interleukin-10 Secretion in Relation to Human IL-10 Locus Haplotypes. *PNAS*, 1998; 95: 9465- 9470.
50. Shibata M, Endo S, Inada K, et al. Elevated plasma levels of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10 in patients with acute myocardial infarction. *J Interferon Cytokine Res*. 1997;17:145–150.
51. Seghaye M, Duchateau J, Bruniaux J, et al. Interleukin-10 release related to cardiopulmonary bypass in infants undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;111:545–553.
52. Sugita T, Watarida S, Katsuyama K, et al. Interleukin-10 concentration in children undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1996;112:1127–1128.
53. Mallat Z, Heymes C, Ohan J, et al. Expression of interleukin-10 in advanced human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:611– 616.
54. Hansson G, Robertson AL, Soderberg-Naucler C. (2006) Inflammation and Atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 1:297–329.
55. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, Deleuze V, Emmanuel F, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 85:17–24.
56. Seyrek N, Karayaylalı I, Balal M, et al. Is there any relationship between serum levels of interleukin-10 and atherosclerosis in hemodialysis patients
57. Kim JM, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Khan TA, Moore KW. Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. *J Immunol* 1992;148:3618–23

58. Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5- flanking sequence. *Immunogenetics* 1997;46:120–8
59. Grundy SM, et al. Small LDL, atherogenic dyslipidemia and metabolic syndrome. *Circulation* 1997;95:69-75.
60. Martinez A, Pascual M, Balsa A, et al. Genetic Polymorphisms in Spanish Rheumatoid Arthritis: an Association and Linkage Study. *Genes Immun*, 2003;4: 117-121.
61. Asadullah K, Eskdale J, Wiese A, Sterry M. Interleukin-10 Promoter Polymorphisms in Psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2001; 116: 975-978.
62. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic Haplotypes of Interleukin-10 5' Flanking Region Determine Variable Interleukin-10 Transcription and are Associated with Particular Phenotypes of Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum*, 1999; 42:1101- 1108.
63. McKay K, Milicic A, Lee D, Tikly M, Laval S. Rheumatoid Arthritis Susceptibility and Interleukin-10: A Study of Two Ethnically Diverse Populations. *Rheumatol*, 2003; 42: 149-153.
64. Lard R, Van galen FA, et al. Association of the -2849 Interleukin-10 Promoter Polymorphism with Autoantibody production and Joint Destruction in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum*, 2003; 48: 1841- 1848
65. Font J, Garcia M, Ramos M, et al. The Role of IL-10 Promoter Polymorphisms in Clinical Expression of Primary Sjogren's Syndrome. *Rheumatol*, 2002; 41:1025- 1030
66. Tagore A, Gonsalkorale WM, et al. IL-10 genotypes in inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*, 1999; 54: 386- 390.
67. Lio D, Licastro F, Scolo L, et al. Interleukin-10 Promoter Polymorphisms in Sporadic Alzheimer's Disease. *Genes Immunity*, 2003; 4: 234- 238.
68. Stec MK, Mandecki T, Markiewicz B, Janowska J, Majewski T. Selected cytokines and soluble forms of cytokine receptors in coronary artery disease. *European Journal of Internal Medicine* 2002;13: 115–122.
69. Smith DA, Irving SD, Sheldon J, Cole D, Kaski JC. Serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* 2001;104:746–749.
70. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Boersma E, Zeiher AM and for the CAPTURE Study Investigators. Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2003;107:2109-2114.

71. The CAPTURE Investigators. Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE Study. *Lancet*. 1997;349:1429–1435.
72. Pasqui AL, Renzo MD, Bova G, Maffei S, Pompella G. Pro-inflammatory/anti-inflammatory cytokine imbalance in acute coronary syndromes. *Clin Exp Med*. 2006;6:38-44.
73. Fickenscher H, Hor S, Kupers H, Knappe A, Sticht H. The IL-10 family of cytokines. *Trends Immunol*, 2002; 23: 89-96.
74. Koch W, Kastrati A, Bottiger C, Mehilli J, Beckerath NV, Schomig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001;159: 137–144.
75. Koch W, Tiroch K, Beckerath NV, Schomig A, Kastrati A. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , lymphotoxin- $\alpha$ , and interleukin-10 gene polymorphisms and restenosis after coronary artery stenting. *Cytokine* 2003;24: 161-171.
76. McGlinchey PG, Spence MS, Patterson C, Allen AR, Murphy G, Savage DA, Maxwell AP, McKeown PP. Cytokine gene polymorphisms in ischaemic heart disease: investigation using family-based tests of association. *J Mol Med* 2004; 82: 756–761.
77. Tedgui A, Mallat Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circ Res* 2001;188:877–887.
78. D'Alfonso S, Rampi M, Rolando V, Giordano M, Momigliano- Richiardi P. New polymorphisms in the IL-10 promoter region. *Genes Immunity* 2000;1:231-33.
79. Donger C, Georges JL, Nicaud V, Morrison C, Evans A, Kee F, Arveiler§ D. New polymorphisms in the interleukin-10 gene relationships to myocardial infarction. *European Journal of Clinical Investigation* 2001; 31: 9-14.
80. Altun B, Yilmaz R, Kahraman S, Genctoy G, Arici M, Oto A, Hayran M. Impact of cytokine gene polymorphism on cardiovascular risk in renal transplant recipients. *Transplant International* 2005;18: 681–689.
81. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R, Welgus HG, Dayer JM. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1995;96:2304 –2310
82. Densem CG, Hutchinson IV, Yonan N, Brooks NH. Influence of interleukin-10 polymorphism on the development of coronary vasculopathy following cardiac transplantation. *Transplant Immunology* 2003;11: 223–228.



83. Monraats PS, Kurreeman F, Pons D, Sewgobind V, Vries FR, Zwinderman AH. Interleukin 10: a new risk marker for the development of restenosis after percutaneous coronary intervention. *Genes and Immunity* 2007; 8: 44–50
84. Francis SE, Camp NJ, Dewberry RM, Gunn J, Syrris P, Carter ND. Interleukin- 1 Receptor Antagonist Gene Polymorphism and Coronary Artery Disease. *Circulation* 1999; 99: 861- 66.
85. Allen RA, Lee EM, Roberts DH, Park BK, Pirmohamed M. Polymorphisms in the TNF-  $\alpha$  and TNF- receptor genes in patients with coronary artery disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 2001; 31: 843- 51.
86. Lio D, Candore G, Crivello A, Scola L. Opposite effects of interleukin 10 common gene polymorphisms in cardiovascular diseases and in successful ageing: genetic background of male centenarians is protective against coronary heart disease. *J Med Genet* 2004;41: 790-94.
87. Iacoviello L, Castelnuovo AD, Gattone M, Pezzini A, Assanelli D. Polymorphisms of the Interleukin-1 $\beta$  Gene Affect the Risk of Myocardial Infarction and Ischemic Stroke at Young Age and the Response of Mononuclear Cells to Stimulation In Vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 222- 227.

## ÖZGEÇMİŞ

**İSİM SOYAD :** EMİN KARACA  
**DOĞUM YERİ:** İzmir, Türkiye  
**DOĞUM TARİHİ:** 8 Ocak 1973, İzmir, Türkiye  
**MEDENİ HALİ:** Evli  
**İŞ MERKEZİ:** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Genetik ve Teratoloji AD  
**TELEFON NUMARASI:** +90 532 257 92 85  
**EĞİTİM:**  
**İLKOKUL:** Ulusal Egemenlik İlkokulu, İzmir, 1984  
**ORTAOKUL-LİSE:** İzmir Özel Türk Lisesi, İzmir, 1990  
**ÜNİVERSİTE:** Dokuz Eylül Tıp Fakültesi, 1997  
**MEZUNİYET SONRASI EĞİTİM:** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genetik ve Teratoloji AD, Phd programı

**BAŞLICA İLGİ ALANLARI:** Sitogenetik  
UPD ( Uniparenteral Disomi)

**CERTIFICATIONS:** Üniversiteler arası dil sınavı (UDS) Puan: 70

Tıpta Uzmanlık Sınavı ( 2000) ( TUS) Puan : 62

Lisanüstü Eğitim Sınavı (LES) Puan: 54

### COURSES AND CONGRESS:

1. 15th Tıbbi Genetik Kursu, Bologna, İtalya, 2002
2. 1st Course in Comparative and Functional Genomics, 2002, Bologna, Italy
3. Avrupa İnsan Genetiği Kongresi, 2003, Birmingham, İngiltere
4. Ulusal Genetik Kongresi, 2003, Konya, Türkiye
5. 3. Ulusal Çocu Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 2003, İzmir, Türkiye
6. II. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu, 2003, Sivas, Türkiye

7. 39. Türk Pediatri Kongresi, 2003, Kapadokya, , Türkiye
8. European Human Genetics Conference, 2003, Birmingham, England
9. 40. Türk Pediatri Kongresi, 2004, İstanbul, Türkiye
10. “Hücre Kültürü Teknolojisinde Temel Prensipler ve Yapay Organlar” Kursu, 2004, İzmir, Türkiye
11. 39. Türk Pediatri Kongresi, 2005, Kapadokya, Türkiye
12. 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, 2005, İstanbul, Türkiye
13. 3. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu, 2005, Bursa, Türkiye
14. European Human Genetics Conference, Czech Republic, 2005.
15. 41. Türk Pediatri Kongresi, 2005, Ankara, Türkiye
16. XXXth World Congress of the International Society of Hematology, 2005, İstanbul, Türkiye
17. 42. Türk Pediatri Kongresi, 2006, Antalya, Türkiye
18. VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 2006, Kayseri, Türkiye
19. 43. Türk Pediatri Kongresi, 2007, Bodrum, Türkiye

## **LABORATUVAR DENEYİMİ:**

1. Periferik kan lenfosit kültürü
2. Amnion sıvısı hücre kültürü
3. Kemik iliği hücre kültürü
4. Kan, kemik iliği, Amnion sıvısından kromozom analizi
5. FISH tekniği (Mikro delesyonlar ve amniosentez hızlı tanı ve subtelomerik)
6. PCR
7. Auto Lipa Mutasyon Analizi
8. QF PCR Analizi
9. Kimerizm Analizi
10. DHPLC Analizi
11. Sekans Analizi

## **PROJELER:**

1. İdiopatik zeka geriliği ve dismorfik yüz görünümlü çocuklarda kriptik kromozom aberasyonlarının subtelomerik FISH ile tayini
2. Bronkopulmoner Displazili Bebeklerde İnflamasyona Yatkınlık Yaratabilecek Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması
3. Konjenital Adrenal Hiperplazide 21 Hidroksilaz Eksikliğine neden olan CYP21A2 Gen Mutasyonları ile Genotip Fenotip Karşılaştırması
4. Konjenital Kalp Hastalıkları Etiyolojisinde 22q11.2 Delesyonunun 2 Farklı Yöntem (FISH ve MLPA) ile Araştırılması
5. Kronik Lenfositler Lösemide telomeraz mRNA düzeylerinin belirlenmesi
6. NTD hastalarda MTHFR polimorfizmlerin araştırılması (EBİLTEM), 2005
7. Çocukluk çağı akut lösemide telomeraz mRNA yükselmesi
8. Silver Russel Sendromu etyolojisinde uniparental dizomi araştırması (EBİLTEM)

## **ALDIĞI DERSLER:**

### **1. Sömestir**

Temel tıbbi genetik, kromozom yapısal anomalileri ve düşükler  
DNA fonksiyonu ve gen ekspresyonu kontrolü

Mendel kalıtımı, tek gen hastalıkları ve akraba evlilikleri

Genetik Danışma I

Seminer

### **2. Sömestir**

Otozomal Kromozom Bozuklukları  
Prenatal tanı ve populasyon genetiği  
Riskli gebelikler  
Genetik Lab. I

### **3. Sömestir**

Mültifaktoriyel hastalıklar, Konjenital malformasyonlar, teratoloji ve sendromlar

Gen haritalama, Linkaj analizi ve insane genom projesi

Genetik Lab II

İmmünojenetik

Kanserler ve kanserlerdeki genetik çalışmalar

### **4. Sömestir**

Seksüel farklılıklar ve seks kromozom bozuklukları

Genetik danışma

Bioistatistik

Nörometabolik bozukluklar

Konjenital göz, kulak ve orofasial anomaliler

## **VERDİĞİ SEMİNERLER:**

- 1- Ambiguous genitaleye klinik ve genetik yaklaşım
- 2-Telomer ve telomerazın fonksiyonu ve etkisi
- 3-Tirozinemiye klinik ve genetik yaklaşım
- 4-DNA tamir mekanizmaları
- 5- NF kappa- $\beta$
- 6- Alagille sendromu

### **Yurtdışı Hakemli Dergilerde Yayımlanan Yayınlar:**

1. Gunduz C, Cogulu O, Cankaya T, Bora E, Karaca E, Alpman A, Sagol S, Onay H, Ozkinay F, Ozkinay C. Trends in cytogenetic prenatal diagnosis in a reference hospital in İzmir/Turkey: a comparative study for four years. *Genet Couns.* 2004;15(1):53-59.
2. Cogulu O, Munanoglu D, Karaca E, Onay H, Ozkinay F. Cleidocranial dysplasia with new additional findings. *Genet Couns*, 2004; 15: 229-231.
3. Cogulu O, Onay H, Ozgenc F, Karaca E, Gunduz C, Tzetis M, Cankaya T, Kanavakis E, Ozkinay F. Trigenocephaly and Wilson's disease in two siblings. *Clin Dysmorphol.* 2005; 14: 161-164.
4. Cogulu O, Karapınar D, Karaca E, Aydinok Y, Ozkinay F. Unusual course of an acute lymphoblastic leukemia case with i(9q) as a sole cytogenetic abnormality. *Leukemia Research* 2006; 30: 1461-63.
5. Cogulu O, Gunduz C, Karaca E, Onay H, Superti-Furgo A, Ozkinay F. Duane Anomaly Meningomyelocele, dextra position of the heart and localised vertebrae alterations with associated anomalies in a girl. *Genet Couns.* 2007; 18: 77-83
6. Bora E, Cankaya T, Alpman A, Karaca E, Cogulu O, Tekgul H, Ozkinay F. A new case of Martsolf Syndrome. *Genet Couns.* 2007; 18: 71-75
7. Cogulu O, Gunduz C, Karaca E, Onay H, Ozkinay F, Ozkinay C. Chromosomal rearrangements in children with idiopathic mental retardation using subtelomeric FISH. *Genet Couns.* 2007; 17: 321-331
8. Cogulu O, Kosova B, Karaca E, Gunduz C, Ozkinay F, Aksoylar S, Gülen H, Kantar M, Onis H, Karapınar D, Cetingul N, Erbay A, Verdin C, Ozkinay C. Evaluation of telomerase mRNA(hTERT) in childhood acute leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2004; 45: 2477-80

9. Alpman A, Bora E, Karaca E, Cankaya T, Onay H, Cogulu O, Kleijer WJ, Ozkinay F. Detection of trisomy 21 in a fetus during the investigation for Tay Sachs Disease. *Genet Coun.* 2004; 15: 99-100

#### **Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Yayınlar:**

1. Cogulu O, Karaca E, , Ozkinay F. Mental retardasyon ve kromozomal subtelomerik bölge. *Bakirköy Tıp Dergisi* 2006; 2: 73-81

#### **Uluslararası Kongrelerdeki Poster Bildirileri:**

1. Ozkinay C, Alpman A, Karaca E, Çankaya T, Bora E, Cogulu O, Gündüz C, Ozkinay F. Trends in cytogenetic prenatal diagnosis in a reference hospital in izmir *Turkey: A comparative study for 4 years*, European Human Genetics Conference, *Eur J Hum Genet*, 2002, Strasbourg, p. 282.
2. Gunduz C, Alpman A, Karaca E, Cankaya T, Bora E, Sagol S, Onay H, Cogulu O, Ozkinay C, Ozkinay F. Seven cases of chromosomal mosaicism detected in amniocentesis and karyotype, phenotype correlations. European Human Genetics Conference, Final Programme and Abstracts, Strasbourg, 2002.
3. Alpman A, Sapmaz G, Karaca E, Cankaya T, Bora E, Cogulu O, Gündüz C, Kleijer WJ, Ozkinay F. Detection of trisomy 21 in a fetus during the investigation for Tay-Sachs disease; prenatal cytogenetic study should be performed associated with molecular or enzymatic studies, European Human Genetics Conference, *Eur J Hum Genet*, 2002, Strasbourg, p. 289.
4. E Karaca, O Cogulu, A Ekmekci, H Onay, S Pehlivan, F Ozkinay, C Ozkinay. A family of type I BPES with 5 affected members. European Human Genetics Conference, *European Journal of Human Genetics*, Volume 13-Supplement 1, 94, Prague, Czech Republic, 2005.
5. O Cogulu, C Gunduz, E Karaca, H Onay, C Ozkinay, F Ozkinay. Cryptic Chromosomal Abnormalities in Children with Mental Retardation Using Subtelomeric FISH. European Human Genetics Conference, *European Journal of Human Genetics*, Volume 13-Supplement 1, 146, Prague, Czech Republic, 2005.

6. Cogulu O, Kosova B, Karaca E, Gunduz C, Karapınar D, Onay H, Erbay A, Vural F, Kantar M, Aydınok Y, Aksoylar S, Cetingul N, Tombuloglu M, Vergin C, Ozkinay F. A preliminary study of telomerase activity evaluation in childhood and adult-onset hematological malignancies. XXXth World Congress of International Congress of Hematology, Abstract Book, 182, Istanbul, Turkey, 2005.
7. Ozcan A, Pehlivan M, Karaca E, Ozkinay C, Pehlivan S. A polymorphism (Lys751Gln) of the DNA repair gene XPD correlates with risk of hematological malignancies in Turkish population. XXXth World Congress of International Congress of Hematology, Abstract Book, 181, Istanbul, Turkey, 2005.

**Uluslararası Kongrelerdeki Sözlü Bildiriler:**

1. Pehlivan M, Karaca E, Pehlivan S, Ozcan A, Onay H, Ozkinay F. The role of MBL, IL4, ACE, CCR5, and IL1RN in patients with hematological malignancies. XXXth World Congress of International Congress of Hematology, Istanbul, Turkey, 2005.

**Ulusal Kongrelerdeki Sözlü Bildiriler:**

1. Karaca E, Alpman A, Cogulu Ö, Ozkinay F, Ozkinay C. Vaka Sunumu: HDR Sendromu Sözlü Sunum, Konya Türk Pediatri Kongresi, 2003.
2. Edeer N, Karaca E, Egemen A, Onay H, Özkinay F. Metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmlerinin nöral tüp defektlerindeki yeri. 42. Türk Pediatri Kongresi, Antalya, 2006.



3. Karaca E, Pehlivan S, Özkınay F, Kılınçarslan C. Silver Russel Sendromlu hastalarda 7. kromozom uniparental disomisi görülme sıklığı. VII. Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Kayseri, 2006.
4. Coğulu Ö, Kosova B, Karaca E, Vural F, Gündüz C, Erbay A, Kantar M, Aksoylar S, Karapınar D, Tombuloğlu M, Vergin C, Çetingül N, Özkınay F. Hematolojik malignitelerde telomeraz aktivitesi ve prognostik faktörlerle ilişkisi. 43. Türk Pediatri Kongresi, Bodrum, 2007.

### **Ulusal Kongrelerde Konuşma**

Genetik Kursu, Mikrodelesyon sendromları, 42. Türk Pediatri Kongresi, Antalya, 2006.

### **Ulusal Kongrelerdeki Poster Bildirileri:**

1. Özkınay C, Gündüz C, Çankaya T, Bora E, Karaca E, Alpman A, Sağol S, Onay H, Coğulu Ö, Özkınay F. İzmir/Türkiye'deki Bir Referans hastanede Sitogenetik Prenatal Tanıda Trendler: 4 Yıl İçin Karşılaştırmalı Çalışma', V. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 131, Konya, 2002.
2. Cankaya T, Ozkınay F, Cogulu O, Sagol S, Karaca E, Alpman A, Bora E, Gunduz C, Ozkınay C. Prenatal diagnosis of mosaic trisomy 15 case. Konya Turkish Pediatrics Congress, 2003
3. Coğulu Ö, Kosova B, Karaca E, Gündüz C, Özkınay F, Aksoylar S, Gülen H, Kantar M, Öniz H, Karapınar D, Çetingül N, Vergin C, Özkınay C. Çocukluk Çağı Akut Lösemilerinde Kan ve Kemik İliği Hücrelerinde PCR Real-Time Online Yöntemi ile Telomeraz Aktivite Tayini. 39. Türk Pediatri Kongresi. Kongre El Kitabı, 421, Kapadokya, 2003.

4. Çoğulu , Munanoğlu D, Karaca E, Onay H, zkınay F. Ek Bulgular Gösteren İki Kleidokraniyal Displazi Olgusu. 39. Türk Pediatri Kongresi. Kongre Kitabı, 564, Kapadokya, 2003.
5. Karaca E, ankaya T, Gündüz C, Demircioğlu , zkınay F. Maternal dengeli translokasyon t(10;21) (p10;p10) orijinli parsiyel Trizomi 10p olgusu. 40. Türk Pediatri Kongresi, İstanbul, 2004.
6. Çoğulu , Gündüz C, Karaca E, Onay H, Alpman A, Serdaroğlu G, zkınay C, zkınay F. İdiyopatik mental retardasyonlu olgularda kromozomlarda subtelomerik bölge anomalilerinin FISH ile araştırılması. 40. Pediatri Kongresi, Konuşma Metinleri ve zet Kitabı, 335, İstanbul, 2004.
7. Egemen A, Edeer N, Karaca E, Onay H, Yıldız B. dem, anemi, hipoproteinemi ve akrodermatitis enteropatika: Kistik Fibrozisin Alışılmadık Başlangıç Tablosu. 48. Milli Pediatri Kongresi. Kongre Kitabı, 358, Samsun, 2004.
8. Biray C, oğulu , Gündüz C, Karaca E, zkınay C, zkınay F. Lösemi hastalarından elde edilen lösemik hücre kültürlerinde Manisa Propolisin telomeraz aktivitesine olan etkisi. VII. Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Kayseri, 2006.
9. ankaya T, Karaca E, Durmaz B, Gündüz C, zkınay C, zkınay F. Preimplantasyon genetik tanı uygulanan olgular ve sonuçları. VII. Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, Kayseri, 2006.